

# THÈSE

**En vue de l'obtention du  
DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE**

**Délivré par l'Université Toulouse 3 - Paul Sabatier**

---

**Présentée et soutenue par**

**Fanny GALLAIS**

Le 20 octobre 2020

**Analyse pharmacocinétique-pharmacodynamique de  
l'ibrutinib dans le contexte d'une étude multidisciplinaire  
pour le traitement de la leucémie lymphoïde chronique**

---

Ecole doctorale : **BSB - Biologie, Santé, Biotechnologies**

Spécialité : **PHARMACOLOGIE**

Unité de recherche :

**CRCT - Centre de Recherche en Cancérologie de Toulouse**

Thèse dirigée par

**Dr Mélanie WHITE-KONING et Dr Ben ALLAL**

Jury

**Dr Florence GATTACCECA**, Rapporteur

**Pr Sylvain GOUTELLE**, Rapporteur

**Dr Jean-Baptiste WOILLARD**, Examineur

**Pr Loïc YSEBAERT**, Examineur

**Pr Etienne CHATELUT**, Examineur

**Dr Mélanie WHITE-KONING**, Directrice de thèse

**Dr Ben ALLAL**, Co-directeur de thèse (membre invité)



# Remerciements

## **A Madame le Docteur Florence Gattacceca,**

Je vous remercie d'avoir accepté d'être rapporteur pour cette thèse, et pour le temps que vous avez consacré à l'examen de ces travaux. C'est un honneur pour moi de vous compter parmi les membres de jury. Veuillez trouver ici le témoignage de toute ma reconnaissance.

## **A Monsieur le Professeur Sylvain Goutelle,**

Je vous remercie de l'intérêt que vous avez porté à ces travaux en acceptant d'être rapporteur de cette thèse. C'est un honneur pour moi de vous compter parmi les membres du jury. Veuillez trouver ici l'expression de toute ma reconnaissance.

## **A Monsieur le Docteur Jean-Baptiste Woillard,**

Je tiens à vous remercier de l'intérêt que vous avez porté à ces travaux de thèse, d'avoir accepté d'examiner mon travail et de faire partie des membres du jury. Veuillez trouver ici l'expression de ma sincère gratitude.

## **A Monsieur le Professeur Loïc Ysebaert,**

Je tiens à te remercier de m'avoir permis de travailler sur les données de l'étude PK-E3i dont tu es l'investigateur principal. J'ai vivement apprécié ton implication, ton enthousiasme et ta grande réactivité vis à vis de cette étude et de mon travail pendant ces trois années. Trouve ici le témoignage de ma sincère gratitude.

## **A Madame le Docteur Emilie Henin,**

Vous avez été la première personne à me donner goût à la pharmacométrie pendant ma 4<sup>ème</sup> année d'études à l'INSA. Vous avez toujours été là pour m'accompagner et me conseiller, et cela m'a été d'une aide précieuse. Je tiens également à vous remercier pour votre participation à mon comité de thèse et pour tous vos conseils qui m'ont été très utiles pour mener à bien ces travaux de thèse. Veuillez trouver ici l'expression de ma profonde gratitude.

## **A Madame Laurence Del Frari,**

Laurence, merci de m'avoir donné l'opportunité d'effectuer mon stage de fin d'études au sein de l'équipe PKPD de Pierre Fabre, et de l'avoir rendu si intéressant que j'ai voulu continuer dans cette voie. Merci également de m'avoir permis de continuer à travailler avec vous tout au long de ma thèse,

j'ai adoré le faire. Un énorme merci pour la confiance que tu as placée en moi et en mon travail. Enfin merci d'avoir accepté de participer à mon comité de thèse et de m'avoir conseillée pour m'aider à mener à bien ces travaux. Tu es une personne que j'admire beaucoup, que ce soit au niveau professionnel ou personnel. Grâce à toi j'ai énormément appris et évolué au cours de ces dernières années. Trouve ici le témoignage de ma plus profonde gratitude.

**A ma Directrice de thèse, Madame le Docteur Mélanie White-Koning,**

Mélanie, je voudrais te remercier d'avoir accepté d'encadrer ces travaux de thèse et de l'avoir fait aussi bien. J'ai eu beaucoup de chance de tomber sur quelqu'un comme toi et j'ai énormément apprécié ces trois années à tes côtés. Tu as vraiment été à la hauteur, que ce soit au niveau professionnel ou au niveau personnel. Tu m'as fait confiance pour mener à bien ces travaux et j'ai beaucoup apprécié de pouvoir compter sur toi à chaque instant. Tu es quelqu'un de formidable et j'espère que nous pourrons rester en contact. Trouve ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

**A mon Directeur de thèse, Monsieur le Docteur Ben Allal,**

Ben, merci d'avoir accepté de co-encadrer ces travaux de thèse. Grâce à toi j'ai beaucoup appris sur le domaine de l'analytique. Je suis arrivée avec très peu de connaissances sur le sujet et pourtant tu m'as tout de suite mise à l'aise et tu as pris le temps de m'enseigner tout ce dont j'avais besoin. Merci de m'avoir fait confiance. Trouve ici l'expression de ma plus profonde gratitude.

**A Monsieur le Professeur Etienne Chatelut,**

Je vous suis très reconnaissante de m'avoir donné l'opportunité d'effectuer ma thèse au sein de votre équipe. Je vous remercie de m'avoir confié des projets intéressants et stimulants qui m'ont permis d'acquérir énormément de connaissances et d'expérience dans les domaines de la pharmacocinétique et de la modélisation. J'ai beaucoup apprécié que vous vous investissiez autant dans mon travail et d'avoir toujours pu compter sur votre réactivité et vos idées lorsque je me trouvais dans une impasse. Veuillez trouver ici l'expression de ma plus sincère reconnaissance.

**A tous les membres de l'équipe 14 du CRCT et du Laboratoire de Pharmacologie de l'IUCT,**

Je voudrais remercier tous les membres de l'équipe, passés ou présents, avec qui j'ai travaillé ou simplement partagé mon quotidien. Vous avez tous contribué à créer une superbe ambiance de travail. Un très grand merci à tous les techniciens qui m'ont aidée à prendre mes marques dans le labo et qui étaient toujours là pour répondre à mes questions. En particulier, merci à Thierry pour toutes ses gammes PANINIB dont je me suis servi, et merci à Malika de m'avoir aidée pour la rédaction de ce

manuscrit. Un grand merci aussi à Sabrina, Aurélia, Aurélie, Isabelle, Christelle et Hélène. Enfin, merci à Fabienne Thomas de m'avoir aidée pour les travaux de génétique.

**Aux étudiants,**

A tous les étudiants avec qui j'ai partagé du temps: Alicja, Maud, Sothea, Félicien, Marie, Marie-Noëlle, Marine, Lorraine, Alejandro, Mourad, Mathieu, ainsi que tous les autres étudiants et externes qui sont passés par le laboratoire durant mes trois années de thèse, je vous remercie pour cette bonne ambiance, pour les pauses café, pour les gâteaux et les ragots, et surtout pour votre soutien durant ce périple. Je suis heureuse d'avoir partagé ces années avec vous, j'en garderai de superbes souvenirs. Je vous souhaite plein de bonnes choses et aussi beaucoup de courage pour la suite.

**A toute l'équipe PKPD de Pierre Fabre,**

Laurence, Aurélie, Laurence B, Nathalie, Eric, Julie, Khaled, Jean-Louis, merci de m'avoir donné l'opportunité de travailler à vos côtés, depuis mon stage de master 2 et jusqu'à la fin de ma thèse. J'ai adoré travailler avec vous, j'ai adoré l'ambiance et la bonne humeur, je n'aurais pas pu rêver d'une équipe plus sympathique. J'espère qu'on aura l'occasion de revoir. Un merci tout particulier à Eric, Laurence et Aurélie qui m'ont grandement aidée dans ma recherche d'emploi avec de superbes recommandations.

**A toutes les personnes qui ont participé aux études PK-E3i et Computreat,**

Fabien Despas, Sandra De Barros, Elodie Judic, Anne Quillet-Mary, Loïc Dupré, Loïc Ysebaert, je vous remercie pour votre implication, votre soutien, et pour avoir rendu possibles ces travaux. En particulier, merci à Sandra et Fabien pour cette collaboration, j'ai beaucoup apprécié votre implication et votre réactivité. Je tiens également à remercier toutes les personnes avec qui j'ai pu collaborer de près ou de loin, les investigateurs, les pharmaciens et biologistes, les chercheurs, le personnel de Bureau des Essais Cliniques, les IDE et les techniciens. Je remercie également les patients qui ont accepté de participer à ces études. C'est grâce à votre implication à tous que ces travaux ont pu voir le jour.

**A mes amis,**

Aux toulousains de naissance ou d'adoption que j'ai rencontrés ces dernières années : Sylvanie, Gwen, Diane, Mélanie, Fabien, Romain M, Romain G, Guillaume, Quentin, et évidemment toute la team des stagiaires Pierre Fabre 2017. Merci d'avoir rendu ces années à Toulouse inoubliables. Un merci tout particulier à Sylvanie, Gwen et Diane pour nos soirées potins, mais aussi pour nous avoir aidés Hugo et

moi à faire notre déménagement de l'enfer. Je veux qu'on garde contact peu importe ce que l'avenir nous réservera. Aussi, à mes deux amies de toujours, Aurélie et Olivia, merci d'avoir partagé les galères de tous les jours sur les bancs de l'INSA. Même si on ne se voit plus souvent, je n'oublierai jamais mes 3 ans de BIM à vos côtés.

#### **A Hugo,**

Je suis heureuse d'avoir choisi de faire une thèse et de rester à Toulouse rien que parce que ça m'a permis de te rencontrer. Merci d'avoir été là pour me soutenir du début à la fin, et de continuer à me soutenir pour la suite. Il n'y a pas de mots assez forts pour dire à quel point je t'aime. Je n'ai qu'une hâte, celle de continuer à construire notre vie à deux.

#### **A mes parents,**

Merci de m'avoir toujours soutenue et fait confiance dans mes projets, même si vous ne comprenez pas toujours en quoi consiste mon travail. Merci d'avoir rendu mon enfance et mon adolescence riches en voyages et en culture. Merci d'avoir fait de moi quelqu'un d'aussi ouverte d'esprit. Je vous aime.

#### **A mes sœurs,**

Merci pour nos souvenirs, les voyages et les moments de rigolade, même si on a aussi passé beaucoup de temps à râler et quelque fois à se disputer. On est toutes les trois très différentes et on a toujours formé un trio plus ou moins insupportable mais ça ne nous empêche pas d'en profiter. Je vous aime.

#### **A mes grands-parents,**

A mes deux grands-pères, Herbert et José, avec qui j'aurais plus que tout voulu partager ce moment. Vous êtes et serez toujours présents dans un coin de mes pensées et dans mon cœur. Cela me rend heureuse de savoir à quel point vous auriez été fiers de moi aujourd'hui. A mes deux grands-mères, Nadine et Monique, merci pour tous ces souvenirs, pour votre soutien, et pour tout ce que vous partagez avec moi. Je vous admire et je vous aime.

#### **A ma belle-famille,**

On ne se connaît que depuis un peu plus d'un an et pourtant j'ai l'impression qu'on se connaît depuis toujours. Merci de m'avoir aussi bien accueillie parmi vous. Merci d'être comme vous êtes, je vous adore.

# Table des matières

<b>LISTE DES ABREVIATIONS.....</b>	<b>8</b>
<b>FIGURES.....</b>	<b>12</b>
<b>TABLEAUX.....</b>	<b>12</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>13</b>
<b>REVUE BIBLIOGRAPHIQUE .....</b>	<b>15</b>
<b>1 Leucémie lymphoïde chronique .....</b>	<b>15</b>
1.1 Quelques chiffres .....	15
1.2 Origine et physiopathologie .....	15
1.3 Etablissement du diagnostic.....	18
1.4 Classification clinique et facteurs pronostics .....	19
1.5 Prise en charge et traitements .....	22
1.6 Complications possibles et évolution de la maladie .....	24
<b>2 Généralités sur l'ibrutinib .....</b>	<b>26</b>
2.1 Propriétés physico-chimiques .....	26
2.2 Propriétés pharmacologiques .....	27
2.2.1 Propriétés pharmacodynamiques.....	27
2.2.2 Propriétés pharmacocinétiques.....	29
2.3 Ibrutinib en clinique .....	30
2.3.1 Essais cliniques et autorisation de mise sur le marché.....	30
2.3.2 Interactions médicamenteuses.....	31
2.3.3 Effets indésirables.....	32
2.3.4 Interruption du traitement .....	34
2.3.5 Rationnel de dose .....	36
2.4 Effets de l'ibrutinib sur les cellules de la LLC.....	38
2.5 Dosage de l'ibrutinib .....	40
<b>3 Généralités sur l'idelalisib.....</b>	<b>44</b>
3.1 Propriétés physico-chimiques .....	44
3.2 Propriétés pharmacologiques .....	45
3.2.1 Propriétés pharmacodynamiques.....	45
3.2.2 Propriétés pharmacocinétiques.....	47
3.3 Idelalisib en clinique.....	47
3.3.1 Essais cliniques et autorisation de mise sur le marché.....	47
3.3.2 Interactions médicamenteuses.....	49
3.3.3 Effets indésirables.....	50

3.3.4	Interruption du traitement .....	52
3.4	Dosage de l'idelalisib .....	52
<b>4</b>	<b>Analyse de données par approche de population .....</b>	<b>54</b>
4.1	Méthodes d'analyse de données pharmacocinétiques.....	54
4.2	Modèles non linéaires à effets mixtes .....	55
4.2.1	Expression générale du modèle.....	57
4.2.2	Modèle de structure .....	57
4.2.3	Modèle statistique .....	59
4.2.4	Modèle de covariables.....	61
4.3	Estimation des paramètres du modèle .....	64
4.3.1	Méthode d'estimation .....	64
4.3.2	Estimation bayésienne des paramètres individuels.....	65
4.4	Evaluation d'un modèle .....	67
4.4.1	Fonction objective .....	67
4.4.2	Graphiques diagnostics.....	68
4.4.3	Précision des estimations .....	68
4.4.4	Visual Predictive Check .....	69
4.4.5	Evaluation externe .....	71
<b>TRAVAUX PERSONNELS .....</b>		<b>72</b>
<b>1</b>	<b>Objectifs .....</b>	<b>72</b>
<b>2</b>	<b>Analyse de la pharmacocinétique de l'ibrutinib et de ses effets sur les lymphocytes circulants dans le contexte de la LLC.....</b>	<b>74</b>
2.1	Introduction .....	74
2.2	Dosage des échantillons patients.....	75
2.3	Modèle pharmacocinétique de l'ibrutinib et de son métabolite dihydrodiol.....	78
2.3.1	Article n°1 .....	78
2.4	Modélisation de l'évolution du taux de lymphocytes circulants chez des patients atteints de LLC traités par ibrutinib .....	93
2.4.1	Article n°2 .....	93
2.5	Discussion.....	112
<b>3</b>	<b>Analyse pharmacocinétique de l'idelalisib.....</b>	<b>114</b>
3.1	Introduction .....	114
3.2	Matériel et méthodes .....	115
3.2.1	Patients et données .....	115
3.2.2	Dosage des échantillons plasmatiques .....	115
3.2.3	Développement du modèle pharmacocinétique de population.....	116
3.3	Résultats.....	117



3.4	Discussion .....	122
3.5	Conclusion .....	123
<b>4</b>	<b>Travaux additionnels : Analyse pharmacocinétique des données de suivi thérapeutique pharmacologique de méthotrexate pour des protocoles de haute dose en oncohématologie ..</b>	<b>124</b>
4.1	Introduction .....	124
4.2	Article n°3 .....	127
4.3	Discussion .....	144
	<b>CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>146</b>
	<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>148</b>
	<b>ANNEXES.....</b>	<b>165</b>
1	Control stream NONMEM du modèle PK ibrutinib .....	165
2	Control stream NONMEM du modèle PK-PD ibrutinib .....	168
3	Control stream NONMEM du modèle PK idelalisib .....	170
4	Liste des publications et communications scientifiques .....	172

## Liste des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
ALAT	Alanine aminotransférase
AMM	Autorisation de mise sur le marché
AO	Aldéhyde oxydase
ARN	Acide ribonucléique
ASAT	Aspartate aminotransférase
ATP	Adénosine triphosphate
ATU	Autorisation temporaire d'utilisation
AUC	Aire sous la courbe des concentrations
BCR	Récepteur à cellules B
BID	Administration deux fois par jour
BR	Bendamustine et rituximab
BSA	Surface corporelle
BTK	Bruton tyrosine kinase
CAR-T cells	Lymphocytes T à récepteur antigénique chimérique
CL	Clairance
Cmax	Concentration maximale
CMV	Cytomégalovirus
COFRAC	Comité français d'accréditation
CQI	Contrôle qualité interne
CV	Coefficient de variation
CYP	Cytochrome P450
CYP3A4, 3A5	Cytochromes P450 3A4, 3A5
DDL	Degrés de liberté
DLT	Toxicité dose-limitante

dOFV	Différence de fonction objective
EBE	Empirical Bayes estimates
EMA	European Medicines Agency
ESI	Ionisation par electrospray
FA	Fibrillation auriculaire
FCR	Fludarabine, cyclophosphamide et rituximab
FDA	Food and Drug Administration
FISH	Fluorescence in situ après hybridation
FO	First-order estimation method
FOCE	First-order conditional estimation method
FOCE-I	First-order conditional estimation with interaction method
FRANCIM	Réseau français des registres des cancers
GOF	Graphiques diagnostics
GP	Glycoprotéine
GVH	Réaction du greffon contre l'hôte
HAS	Haute autorité de santé
HCL	Hôpitaux civils de Lyon
HPLC	Chromatographie liquide à haute performance
IC50	Concentration inhibitrice médiane
IGHV	Immunoglobulin heavy chain variable
IMC	Indice de masse corporelle
INCa	Institut National du Cancer
INR	International Normalized Ratio
IRA	Insuffisance rénale aiguë
IUCT	Institut universitaire du cancer
IV	Intraveineuse
LAL	Leucémie aiguë lymphoblastique

LC	Chromatographie liquide
LCM	Lymphome à cellules du manteau
LF	Lymphome folliculaire
LLC	Leucémie Lymphoïde Chronique
LLP	Log-likelihood profile
LNH	Lymphome non-hodgkinien
MAP	Maximum a posteriori
MBL	Lymphocytose B monoclonale
miARN	Micro Acide ribonucléique
MRD	Maladie résiduelle minimale
MRM	Multiple reaction monitoring
MS	Spectrométrie de masse
MS/MS	Spectrométrie de masse en tandem
MTD	Dose maximale tolérée
MTX	Methotrexate
MW	Maladie de Waldenström
NCI	National Cancer Institute (Etats-Unis)
NF-κB	Nuclear factor-kappa B
NK	Natural Killers
NLC	Cellules nurse-like
OFV	Fonction objective
OS	Survie globale
PBPK	Physiologically based pharmacokinetic
PD	Pharmacodynamie
PE	Erreur de prédiction
PFS	Survie sans progression
P-gp	Glycoprotéine P

PI3K	Phosphoinositide 3-kinase
PIP2	Phosphatidylinositol-4,5-biphosphate)
PIP3	Phosphatidylinositol3,4,5-triphosphate
PK	Pharmacocinétique
PPJ	Pneumonie à Pneumocystis jirovecii
PS	ECOG performance status
QD	Administration une fois par jour
qPCR	Réaction en chaîne par polymérase quantitative
RC	Réponse complète
RCP	résumé des caractéristiques produit
RCPG	Récepteurs couplés aux protéines G
RP	Réponse partielle
RSE	Erreur standard relative
RTK	Récepteurs à activité tyrosine kinase
SE	Erreur standard
SIR	Sampling importance resampling
SLL	Lymphome lymphocytaire
SRM	Selected reaction monitoring
STP	Suivi thérapeutique pharmacologique
TK	Thymidine kinase
TP53	Tumor Protein 53
UGT	UDP-glucuronosyltransferase
UHPLC	Chromatographie liquide à ultra haute performance
VPC, pcVPC	Visual predictive check, prediction corrected visual predictive check
XLA	Agammaglobulinémie liée à l'X
ZAP-70	Zeta-chain-associated-protein kinase
β2m	β2-microglobuline

## Figures

Figure 1 – Schéma de la structure du récepteur à cellules B .....	17
Figure 2 – Frottis sanguin d'un patient atteint de LLC .....	19
Figure 3 – Structure chimique de l'ibrutinib.....	26
Figure 4 – Schéma de la cascade de signalisation du BCR.....	28
Figure 5 – Mécanisme de résistance à l'ibrutinib dans le cas de la mutation C481S de la BTK.....	36
Figure 6 – Comparaison du niveau de BTK avant le début du traitement et 4 semaines plus tard.....	37
Figure 7 – Comparaison du niveau de BTK au cours du temps .....	37
Figure 8 – Différents profils de lymphocytose observés chez les patients atteints de LLC et traités par ibrutinib .....	40
Figure 9 – Spectrométrie de masse en tandem avec un système à 3 quadripôles.....	42
Figure 10 – Structure chimique de l'idelalisib .....	44
Figure 11 – Voie de signalisation PI3K/AKT .....	46
Figure 12 – Schéma de l'extension de suivi des patients de l'étude G-US-312-0116 .....	49
Figure 13 – Schéma de l'analyse de population.....	56
Figure 14 – Schéma d'un modèle à deux compartiments pour une administration intraveineuse .....	58
Figure 15 – Illustration du phénomène d' $\eta$ -shrinkage .....	66
Figure 16 – Exemple de VPC pour un médicament administré par voie orale .....	70
Figure 17 – Concentrations plasmatiques d'idelalisib observées aux différentes visites .....	119
Figure 18 – Graphiques diagnostics du modèle pharmacocinétique de l'idelalisib.....	120
Figure 19 – VPC du modèle final de l'idelalisib .....	121
Figure 20 – Mécanisme d'action principal du méthotrexate et stratégies de secours en cas d'élimination retardée.....	125

## Tableaux

Table 1 – Caractéristiques des patients idelalisib à l'inclusion (n=26).....	118
Table 2 - Estimations des paramètres pharmacocinétiques de l'idelalisib .....	122

## Introduction

Selon Santé Publique France, les cancers représentent aujourd'hui la première cause de décès chez l'homme, et la deuxième chez la femme, avec un total de 382 000 nouveaux cas recensés dans le pays en 2018. Les cancers qui se développent à partir de cellules du sang sont appelés cancers hématologiques ou hémopathie malignes et représentent environ 5% de cas de cancer, avec 35 000 nouveaux cas en France en 2012. On peut les classer en trois catégories distinctes : les leucémies (cellules anormales circulant dans le sang), les myélomes (lésions osseuses) et les lymphomes (atteinte des ganglions). La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est la leucémie la plus fréquente chez l'adulte. Elle se caractérise par l'accumulation de lymphocytes B non fonctionnels dans la moelle osseuse, le sang et les ganglions lymphatiques. La LLC est une pathologie qualifiée d'indolente puisqu'il est possible qu'un patient diagnostiqué ne présente aucun symptôme important et n'ait pas besoin de traitement spécifique pendant plusieurs années. Quand la LLC atteint un stade clinique justifiant la mise en place d'un traitement, sa progression se caractérise par l'alternance de phases de réponse aux traitements et de phases de rechute, avec des survies variables selon les patients.

Historiquement, la LLC était traitée par chimiothérapie à l'aide d'agents alkylants et d'analogues de purine. Durant la dernière décennie, de nouveaux médicaments ont vu le jour, tels que les anticorps monoclonaux et de petites molécules inhibitrices. L'apparition de ces nouvelles thérapies dites ciblées a révolutionné le pronostic et les modalités de prise en charge de plusieurs pathologies tumorales au cours de ces dernières années. En 2014, deux nouvelles molécules ont obtenu une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) pour le traitement d'hémopathies malignes : l'ibrutinib et l'idelalisib. Ce sont deux inhibiteurs de protéines kinases indiqués dans le traitement de la LLC mais aussi pour d'autres lymphomes : principalement le lymphome à cellules du manteau (LCM) et la maladie de Waldenström (MW) pour l'ibrutinib et le lymphome folliculaire (LF) pour l'idelalisib. Les deux médicaments inhibent la cascade de signalisation du récepteur à cellules B (BCR) largement impliqué dans ces pathologies. Plus précisément, l'ibrutinib est un inhibiteur de la Bruton Tyrosine Kinase (BTK) tandis que l'idelalisib cible la phosphoinositide 3-kinase delta (PI3K $\delta$ ). Ces deux enzymes jouent un rôle essentiel dans la cascade de signalisation du BCR. Par ailleurs, les paramètres pharmacocinétiques de ces deux médicaments révèlent une importante variabilité interindividuelle.

Ces travaux ont pour but d'étudier la pharmacocinétique de l'ibrutinib et de l'idelalisib, de quantifier et d'expliquer la variabilité interindividuelle et d'analyser le lien entre pharmacocinétique et réponse au traitement, en termes d'efficacité et de toxicité. En ce sens, deux études cliniques ont été menées afin de permettre la récolte des données nécessaires. La première est l'étude PK-E3i qui

s'intéresse principalement à l'association entre la survenue d'effets indésirables cliniquement significatifs et les concentrations plasmatiques moyennes à l'état d'équilibre de l'ibrutinib ou de l'idelalisib. La seconde est l'étude COMPUTREAT qui inclut un sous ensemble de patients de l'étude PK-E3i, tous atteints de LLC et traités par ibrutinib. Elle s'intéresse plus en détails à l'évolution physique et biologique des cellules de la LLC lors du traitement par ce médicament. L'étude COMPUTREAT fait notamment intervenir plusieurs équipes de recherche s'intéressant à différents angles d'étude de la LLC : motilité et viabilité des cellules leucémiques, contrôle immunitaire, imagerie, pharmacocinétique et réponse clinique. Le but final de cette étude est d'utiliser l'ensemble de ces données pour construire un modèle mathématique de l'évolution de la LLC sous ibrutinib.

Ce manuscrit débutera par une revue bibliographique. Dans un premier temps, une vue d'ensemble de la LLC sera développée. Nous évoquerons la physiopathologie de cette maladie, son pronostic et les possibilités de traitement existantes. Nous développerons ensuite les connaissances sur ces deux médicaments possédant une indication pour la LLC : l'ibrutinib et l'idelalisib. Une dernière partie s'intéressera à la méthodologie des modèles non linéaires à effets mixtes, correspondant à l'approche de population utilisée pour l'analyse de données pharmacocinétiques. Enfin, nous présenterons les travaux personnels effectués tout au long de cette thèse. Ils se décomposeront en quatre sous-parties :

- Une première partie s'intéressera à la pharmacocinétique de l'ibrutinib. L'objectif de cette partie était de construire un modèle pharmacocinétique de population pour quantifier et expliquer la variabilité interindividuelle observée au niveau des concentrations d'ibrutinib.
- Une seconde partie portera sur l'analyse de la dynamique des lymphocytes dans la LLC traitée par ibrutinib. L'objectif de cette partie était de caractériser les différents types de profils observés et de développer un modèle permettant de les décrire et de quantifier l'impact de la pharmacocinétique sur cette réponse.
- Une troisième partie présentera les travaux réalisés sur la pharmacocinétique de l'idelalisib. L'objectif de cette partie était de construire un modèle pharmacocinétique de population pour quantifier et expliquer la variabilité interindividuelle observée au niveau des concentrations d'idelalisib.
- Enfin, une dernière partie présentera les travaux additionnels réalisés pendant cette thèse, sortant quelque peu du sujet principal mais restant dans la thématique de la pharmacocinétique et de l'oncohématologie. Nous présenterons des travaux réalisés sur l'analyse de données de suivi thérapeutique pharmacologique de patients traités par du méthotrexate à haute dose pour une leucémie aiguë lymphoblastique ou un lymphome.



# 1 Leucémie lymphoïde chronique

## 1.1 Quelques chiffres

La leucémie lymphoïde chronique est une hémopathie maligne touchant les lymphocytes B. Il s'agit du type de leucémie le plus fréquent retrouvé chez l'adulte dans les pays occidentaux (1). En France, une étude collaborative menée par le Réseau français des registres des cancers (FRANCIM), le service de biostatistiques et bio-informatique des Hospices civils de Lyon (HCL), Santé publique France et l'Institut National du cancer (INCa) recense près de 4700 nouveaux cas de LLC en France en 2018 (2). Les hommes sont les plus touchés avec 59% des cas et un taux d'incidence de 4.0 pour 100 000 personne-années versus 2.1 pour 100 000 personne-années chez les femmes. C'est une pathologie qui touche préférentiellement les personnes âgées, en France l'âge médian au diagnostic est de 71 ans chez les hommes et 73 ans chez les femmes. Aux Etats-Unis, le National Cancer Institute (NCI) rapporte près de 21 000 nouveaux cas en 2019 représentant 1.2% des cancers (en 2016 taux d'incidence de 6.8 et 3.5 pour 100 000 personne-années chez les hommes et les femmes respectivement) et 4000 décès, soit 0.6% de l'ensemble des décès liés au cancer (3). L'âge médian au diagnostic aux Etats-Unis est de 70 ans. Avec le vieillissement de la population et le recours de plus en plus fréquent à la prise de sang pouvant mener au diagnostic, le nombre de cas de LLC recensés est en constante augmentation (1,2).

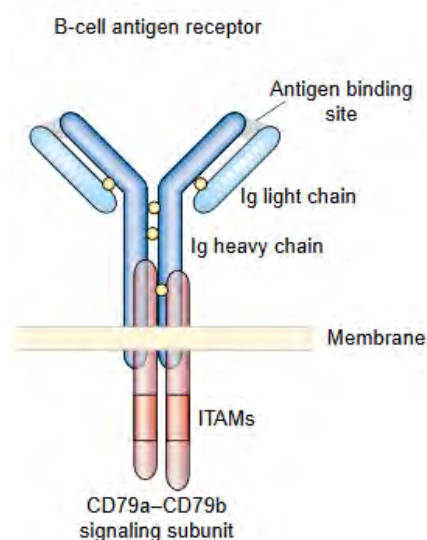
## 1.2 Origine et physiopathologie

La LLC se caractérise par l'accumulation importante de lymphocytes B matures anormaux dans la moelle osseuse, le sang, les ganglions lymphatiques et la rate (4). Ils sont repérables grâce à l'expression de certains marqueurs cellulaires à leur surface, en particulier la protéine CD5 (5). Cette accumulation est notamment due à un défaut d'apoptose de ces lymphocytes B. Cependant, une étude a montré un taux important de naissance et de mort des cellules de la LLC, suggérant qu'il s'agit donc d'une maladie dynamique qui n'est pas uniquement liée à l'accumulation due à un défaut de l'apoptose (6). L'état de lymphocytose monoclonale B (MBL) se définit comme la présence de moins de 5 G/L de lymphocytes B présentant un immunophénotypage similaire à celui retrouvé dans la LLC, ainsi que l'absence d'adénopathie, d'organomégalie et de symptômes de maladie auto-immune. Il est

considéré comme l'état précédant toute LLC. Chaque année, 1 à 2% des patients présentant une MBL progressent vers une LLC (7).

Ces dernières années, des études ont permis de mieux comprendre l'origine de la formation des cellules de la LLC (8–10). Une étude a montré que les clones retrouvés dans la LLC pouvaient provenir du développement de certaines cellules souches hématopoïétiques (10). Ces cellules subiraient des événements oncogénétiques menant à l'établissement de la pathologie (11). De nombreuses études ont identifié de tels événements (mutations, délétions, additions) affectant différentes voies de signalisations comme celle du BCR, de NOTCH1, de NF- $\kappa$ B, ou celles liées à l'inflammation, ainsi que certains mécanismes comme la réparation de l'ADN, la constitution des ARNs, la structuration de la chromatine ou le cycle cellulaire et l'apoptose (12,13). L'accumulation de ces lésions génétiques est fortement impliquée dans la genèse de la LLC. Nous reviendrons en détail sur plusieurs de ces anomalies génétiques dans la section 1.4.

Parmi les voies de signalisation impliquées dans la LLC, il est aujourd'hui clair que le BCR joue un rôle très important. Le BCR est composé d'une immunoglobuline de surface capable de reconnaître un antigène spécifique et d'une unité de signalisation constituée du couple des protéines CD79a et CD79b (Figure 1). La phosphorylation de ces protéines déclenche une cascade de phosphorylation qui aboutit à l'activation de facteurs de transcription nécessaires à la prolifération des cellules B. Dans la LLC, la voie de signalisation du BCR est essentielle à la survie des cellules, à leur prolifération et à leurs interactions avec le microenvironnement (14). Il a aussi été montré que la protéine ZAP-70, qui est exprimée dans la moitié des cas de LLC, augmente la signalisation du BCR (15). Etant donné son importance dans la LLC, le BCR est devenu une cible thérapeutique importante (16).

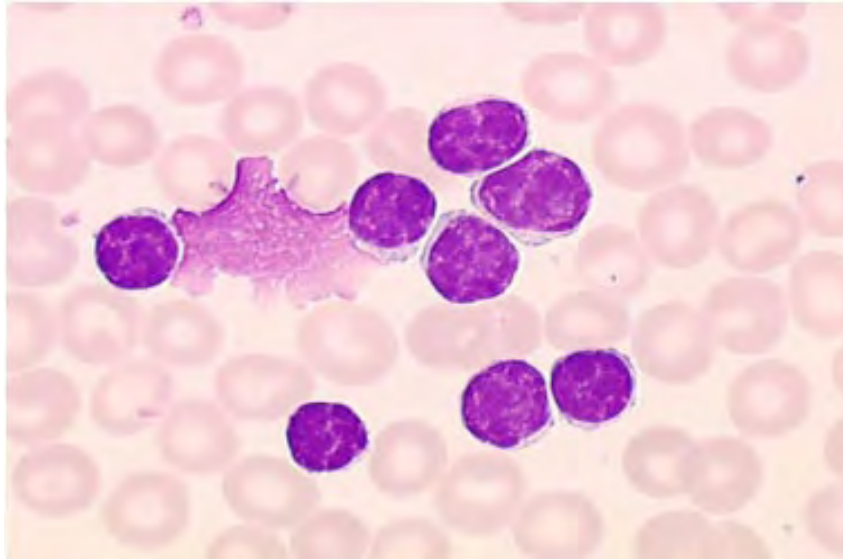


**Figure 1 – Schéma de la structure du récepteur à cellules B**  
*D'après Gold et al. (17)*

Les cellules leucémiques ont une survie prolongée *in vivo*, mais lorsqu'on les étudie *in vitro*, elles entrent rapidement en apoptose. Cette observation a permis de mettre en évidence l'importance du microenvironnement pour la survie des cellules de la LLC. Le microenvironnement des cellules leucémiques comporte des cellules T CD4+, des *natural killers* (NK), des cellules stromales mésenchymateuses, des cellules folliculaires dendritiques, des cellules endothéliales et des cellules *nurse-like* (NLC) (18). Il favorise le maintien et la prolifération des cellules leucémiques. Les différents types de cellules se trouvant dans le microenvironnement présentent des interactions complexes avec les récepteurs présents sur les cellules de la LLC et sont impliqués dans la production de molécules d'adhésion (VLA4, CD62L), de cytokines (IL-4, VEGF) et de chemokines (CXCL12, CXCL13, CCL19, CCL21). Les chemokines sont responsables de l'attraction des cellules leucémiques vers ce microenvironnement (phénomène de *homing*) (19). La première chemokine ayant été décrite est CXCL12 qui est produite par les NLC et les cellules stromales. La création d'un gradient de CXCL12 permet d'attirer les cellules de la LLC via l'attraction par les récepteurs correspondants (CXCR4) qu'elles portent. Une fois en contact avec les NLC, les cellules leucémiques sont retenues et reçoivent des signaux empêchant leur mort (20). C'est le même mécanisme avec la chemokine CXCL13 associée au récepteur CXCR5 (21). C'est l'ensemble de ces interactions cellulaires complexes qui permettent aux cellules leucémiques de s'accumuler de façon anormale.

### 1.3 Etablissement du diagnostic

Plusieurs examens permettent d'aboutir au diagnostic de la LLC. Les trois principaux éléments permettant d'établir le diagnostic sont le nombre, la morphologie et l'immunophénotype des lymphocytes B sanguins. Le premier examen est la réalisation d'une numération sanguine à partir d'une prise de sang. Un nombre de lymphocytes B supérieur à 5 G/L est un premier signe évocateur de la LLC. Dans la plupart des cas, la LLC est suspectée suite à une prise de sang montrant un taux important de lymphocytes B (4) et la prescription de plus en plus fréquente de prises de sang permet de diagnostiquer la LLC de plus en plus tôt (1). Pour compléter ce premier examen, un frottis sanguin est réalisé. Il s'agit de l'observation d'une goutte de sang entre deux lames de verre au microscope pour repérer les lymphocytes B de la LLC qui ont des caractéristiques morphologiques particulières. Ce sont de petits lymphocytes matures présentant un noyau à chromatine dense et très peu de cytoplasme. Le phénomène d'ombres de Gumprecht lié à l'éclatement des lymphocytes au moment du frottis est également caractéristique de la LLC (Figure 2) (22,23). Le diagnostic est confirmé par un immunophénotypage des lymphocytes sanguins réalisé grâce à la cytométrie de flux. Il s'agit de rechercher les lymphocytes B de la LLC dont on sait qu'ils coexpriment les antigènes CD5, CD19, CD20 et CD23 et ont une expression plus faible que la normale pour CD20 et CD79b. De plus, on sait que chaque clone présente des immunoglobulines composées du même type de chaînes légères ( $\kappa$  ou  $\lambda$ ) (24–26). Ces marqueurs suffisent normalement à établir le diagnostic. En cas de doute, d'autres marqueurs tels que CD43, CD79b, CD81, CD200, CD10 ou ROR1 peuvent être recherchés (27,28). Les marqueurs CD38 et ZAP-70 ont également été mis en évidence (29). En 1994, Matutes et al. ont proposé un score de diagnostic basé sur la présence de ces marqueurs (26). Le score attribue un point dans les cas suivants : présence de CD5, présence de CD23, faible expression de CD22 ou CD79b, faible expression d'immunoglobulines de surface, absence de FMC7, autre marqueur d'intérêt. Si le score est supérieur ou égal à 4, il s'agit d'un cas de LLC. C'est également possible avec un score de 3 dans des cas plus rares de LLC atypiques. Par la suite, il a été montré que l'ajout du marqueur CD200 dans le calcul de ce score permettait d'améliorer ses prédictions en termes de sensibilité et de spécificité (30).



**Figure 2 – Frottis sanguin d'un patient atteint de LLC**

*On observe de petits lymphocytes matures présentant un noyau à chromatine dense et très peu de cytoplasme ainsi que des cellules éclatées qui forment des ombres de Gumprecht (23)*

Outre ces examens, d'autres tests peuvent être réalisés comme la palpation des aires ganglionnaires, le myélogramme ou la recherche de traits génétiques. La technique de fluorescence in situ après hybridation (FISH) permet de rechercher des anomalies génétiques souvent retrouvées chez les patients atteints de LLC : des délétions sur certains chromosomes (principalement del(13)q mais aussi del(11)q et del(17)p), la mutation de certains gènes (TP53 mais aussi NOTCH1 et SF3B1) ou encore la trisomie du chromosome 12 (31). La mutation du gène codant pour la chaîne lourde variable des immunoglobulines (IgHV) est également fréquemment retrouvée (32). Concernant le myélogramme, il peut être réalisé même s'il n'est pas nécessaire au diagnostic de la LLC. Il peut permettre de préciser l'origine d'une cytopénie. Plus récemment, des micro ARNs (miARN) ont été identifiés comme de potentiels nouveaux marqueurs diagnostics de la LLC (33,34).

#### 1.4 Classification clinique et facteurs pronostics

La LLC est une pathologie qui se caractérise par une importante hétérogénéité biologique, ce qui se traduit au niveau clinique par de grandes différences entre les patients. Comme nous allons le voir plus tard, différentes stratégies de prise en charge et de nombreux médicaments sont disponibles pour traiter la LLC. Il n'existe pas de stratégie unique, c'est pourquoi il est crucial de caractériser au mieux l'état clinique de chaque patient afin de pouvoir proposer la prise en charge la plus adaptée à chacun. Les premières classifications qui ont été proposées dans les années 1980 sont celles de Rai (35) et de

Binet (36). La première propose une classification en cinq groupes de risque croissant appelés stades 0 à 4 et définis de la façon suivante :

- Stade 0 : Lymphocytose
- Stade 1 : Lymphocytose et hypertrophie des nœuds lymphoïdes (adénopathie)
- Stade 2 : Lymphocytose, hypertrophie des nœuds lymphoïdes, de la rate et/ou du foie (splénomégalie, hépatomégalie)
- Stade 3 : Lymphocytose et faible taux d'hémoglobine ( $< 11$  g/dL)
- Stade 4 : Lymphocytose et faible taux de plaquettes ( $< 100$  G/L)

Cette classification a ensuite été réduite à trois groupes (stades 0, 1-2 et 3-4) (37). De façon similaire, la classification proposée par Binet et al. (36) repose sur trois groupes de risque croissant appelés stades A, B et C et définis de la façon suivante :

- Stade A : Lymphocytose avec au plus deux aires ganglionnaires atteintes
- Stade B : Lymphocytose avec au moins trois aires ganglionnaires atteintes
- Stade C : Lymphocytose et faible taux d'hémoglobine ( $< 10$  g/dL) ou de plaquettes ( $< 100$  G/L)

Ces deux systèmes sont largement utilisés par les cliniciens car ils ne demandent pas d'examen poussé et peuvent être effectués rapidement. Ils permettent d'obtenir une première idée de l'état d'avancement de la maladie. Néanmoins, si ces deux classifications sont utiles pour évaluer l'état clinique du patient au moment du diagnostic de la LLC, elles ne sont pas suffisantes pour caractériser plus en détail le pronostic du patient. Par exemple, un patient diagnostiqué à un stade intermédiaire peut ensuite évoluer rapidement ou à l'inverse présenter une maladie indolente pendant plusieurs années. Depuis ces premières publications, de nombreux travaux se sont intéressés aux facteurs pronostics de la LLC, c'est-à-dire aux marqueurs associés au risque de progression de la maladie, indépendamment du traitement effectué (38,39).

Parmi les facteurs pronostics identifiés, on peut tout d'abord citer les caractéristiques morphologiques des cellules de la LLC : un taux important de prolymphocytes ou de lymphocytes clivés est associé à un mauvais pronostic (40,41). Aussi, le temps de doublement des lymphocytes (temps nécessaire pour que le nombre absolu de lymphocytes soit doublé) est un indicateur important de l'évolution de la maladie. Les patients présentant un temps de doublement inférieur à douze mois montrent un taux de survie diminué (42,43). Parmi les facteurs pronostics les plus importants, la présence d'une mutation sur le gène codant pour les chaînes lourdes des immunoglobulines (IgHV muté) est largement reconnue comme un facteur de bon pronostic de la LLC. On retrouve ensuite la délétion del(13)q14, présente chez 50 à 60% des patients, elle est généralement associée à un bon pronostic, sauf quand

elle affecte le gène RB1 (44). La présence d'une trisomie 12, retrouvée chez 15% des patients, est associée à un risque intermédiaire, mais les patients présentant cette anomalie ont plus de risque de développer un syndrome de Richter, complication de la LLC de très mauvais pronostic (Cf. section 1.6) (45). La délétion del(11)q (également retrouvée chez 15% des patients) est associée à la perte du gène qui code pour la protéine ATM dont le rôle est de réparer les cassures double-brins dans l'ADN. Cette délétion est également associée à un mauvais pronostic. La délétion del(17)p est retrouvée chez environ 10% des patients, elle est généralement associée à la perte du gène suppresseur de tumeur TP53 (46). Les deux anomalies sont donc étroitement liées même s'il a été montré que chacune était indépendamment prédictive d'un mauvais pronostic de la LLC (47). On peut également citer la présence d'un caryotype complexe, défini par la présence d'au moins trois anomalies chromosomiques non apparentées, qui est associée à un mauvais pronostic (48). Avec les récentes avancées des technologies de séquençage à haut débit, d'autres gènes d'intérêt ont été mis en évidence, comme NOTCH1 et SF3B1 par exemple (49). On peut aussi mentionner l'expression de certains marqueurs cellulaires comme CD38 et ZAP70 qui sont associés à un mauvais pronostic (29). Des marqueurs sériques ont également été identifiés. Un taux élevé de  $\beta$ 2-microglobuline ( $\beta$ 2m), une protéine extracellulaire de la superfamille des immunoglobulines, est associé à un mauvais pronostic. De même, un taux élevé de thymidine kinase (TK), une enzyme impliquée dans la réparation de l'ADN lors de sa synthèse, est associé à une progression rapide de la maladie. Enfin, des caractéristiques du patient telles que l'âge, le sexe, ou le statut de performance de l'OMS (*ECOG performance status*, PS) sont également utilisées pour établir le pronostic (38). Plusieurs méthodes permettant de calculer un indice de pronostic de la LLC ont été proposées (49–52). Molica et al. ont proposé une échelle nommée CLL-IPI permettant de calculer un score entre 0 (risque faible) et 10 (risque très important) à partir de cinq facteurs : la mutation TP53 et/ou délétion del(17)p, le statut mutationnel IgHV, le taux de  $\beta$ 2m, le stade clinique de Binet et l'âge (50). Ce score a été proposé suite à l'analyse de 3500 patients inclus dans des essais cliniques évaluant différents traitements. Le score est donc indépendant du traitement. Néanmoins, au moment de l'étude, les patients étaient traités principalement par chimiothérapie, et les nouvelles molécules telles que l'ibrutinib n'étaient pas encore sur le marché. Il se peut donc que ces résultats ne soient plus vérifiés si l'on prend en compte les nouveaux modes de traitement (53). Dans une autre étude, Pflug et al. proposent également un système de score de risque à calculer à partir des facteurs suivants : délétions del(17)p et del(11)q, taux de TK et de  $\beta$ 2m, statut mutationnel IgHV, PS, âge et sexe (52).

## 1.5 Prise en charge et traitements

Comme évoqué précédemment, la LLC est une pathologie présentant une forte hétérogénéité biologique et clinique. Le choix de la stratégie de traitement va donc varier d'un patient à un autre. Plusieurs options sont envisageables : la surveillance sans traitement médicamenteux, l'initiation d'un traitement médicamenteux ou encore la greffe de cellules souches. La première option consiste à réaliser des examens cliniques et biologiques réguliers pour surveiller le développement de la maladie. La LLC étant une maladie indolente, il se passe parfois plusieurs années avant d'observer des symptômes d'évolution vers un état clinique nécessitant la mise en place d'un traitement. Dans le deuxième cas, le patient entame un traitement médicamenteux. De nombreux médicaments ont été approuvés par l'EMA et la FDA pour l'indication de la LLC (54). On peut les répartir en deux grandes catégories : les chimiothérapies, qui agissent sur l'ensemble de l'organisme, et les thérapies ciblées qui vont viser plus spécifiquement les cellules leucémiques. En chimiothérapie, on utilise principalement des agents alkylants (chlorambucil, cyclophosphamide, bendamustine) et des analogues de purine (fludarabine, cladribine). Parmi les thérapies ciblées on distingue les anticorps monoclonaux (rituximab, ofatumumab, obinutuzumab), les inhibiteurs de tyrosine kinase (ibrutinib, idelalisib) et les inhibiteurs de la protéine BCL2 (venetoclax). Plus récemment, l'immunothérapie s'est également développée avec l'utilisation d'immunomodulateurs comme le lenalidomide ou encore le recours aux *CAR T cells* (55). Ces différents médicaments peuvent être combinés avec par exemple le protocole FCR (fludarabine, cyclophosphamide et rituximab) ou BR (bendamustine et rituximab) qui sont les plus utilisés en première intention. Actuellement, de nombreux essais cliniques évaluent de nouveaux médicaments ou combinaisons de médicaments pour le traitement de la LLC (près de 300 essais cliniques pour le traitement de la LLC recrutant actuellement des patients sont répertoriés sur le site internet *clinicaltrials.gov*). Enfin la troisième solution consiste à effectuer une greffe de cellules souches qui permet de remplacer, dans la moelle osseuse, les cellules qui sont à l'origine de la formation des cellules sanguines. C'est la seule option qui permet d'envisager une guérison totale de la LLC (56). Néanmoins elle est de moins en moins considérée, sa balance bénéfice-risque ne semblant pas être intéressante par rapport à l'utilisation des petites molécules inhibitrices récemment arrivées sur le marché (57,58).

De nombreux choix s'offrent donc au praticien pour la prise en charge des patients ayant été diagnostiqués d'une LLC. Le choix de la stratégie s'appuie sur plusieurs critères. Pour les patients présentant un stade de Binet A ou B, c'est la surveillance qui s'impose puisque le bénéfice d'un traitement médicamenteux n'a pas été démontré et il est préférable d'éviter d'exposer le patient à des effets indésirables (59–61). Pour les patients de stade B présentant une évolution de la maladie ou



les patients de stade C, il est recommandé d'initier un traitement. Les guidelines du workshop international sur la LLC publiées en 2018 répertorient un certain nombre de critères définissant l'avancement de la maladie et justifiant l'initiation d'un traitement, comme l'apparition d'une splénomégalie ou d'une adénopathie importante, ou encore une augmentation importante de la lymphocytose (22). Le choix du ou des médicaments à employer dépend ensuite de l'état général du patient, de son âge, mais aussi de la présence de certains facteurs pronostics permettant d'évaluer l'agressivité de la maladie. On sait aussi que certains facteurs sont prédictifs de la réponse au traitement. En particulier, la délétion del(17)p est associée avec une mauvaise réponse aux traitements de type chimiothérapie. C'est aussi le cas de la présence d'un caryotype complexe et d'un IgHV non muté (62). C'est pourquoi pour ces patients il est recommandé de démarrer le traitement avec des thérapies ciblées comme l'ibrutinib ou le venetoclax en association avec l'obinutuzumab. Dans sa revue (1), Michael Hallek propose une stratégie détaillée pour le choix du traitement de première intention, puis de deuxième intention, se basant sur le stade de Binet, la présence ou non d'une délétion del(17)p, l'état général du patient et la présence ou non d'une mutation IgHV. Dans le cas le « moins à risque » (pas de délétion del(17)p, IgHV muté, bon état général du patient, âge inférieur à 65 ans), c'est le protocole FCR qui est recommandé. En plus de la difficulté du choix de traitement en première intention, on peut souligner qu'il existe aussi de nombreuses possibilités quant au choix du traitement en deuxième, puis en troisième ligne pour les cas de patients en rechute ou réfractaires aux traitements précédents.

Il est important d'évaluer la réponse au traitement pour décider de la marche à suivre. Plusieurs cas sont possibles : la rémission dite complète (RC), la rémission partielle (RP), la progression ou encore la stabilisation de la maladie. Un patient dit en rechute est un patient présentant une progression de sa maladie alors qu'il avait auparavant atteint une RC ou une RP pendant au moins six mois. Un patient dit réfractaire est un patient dont le traitement n'a pas fonctionné (non-réponse, progression) ou qui présente une progression de sa maladie dans les 6 mois suivant la dernière dose de médicament administrée. Les différents états sont définis par des critères tels que la taille des ganglions, de la rate et du foie, le taux de lymphocytes circulants, celui des plaquettes et celui de l'hémoglobine, la présence de cellules de la LLC dans la moelle osseuse, etc. (22). On peut également se baser sur l'évaluation de la maladie résiduelle minimale (MRD) pour évaluer l'avancement de la rémission (63). En effet, des études ont montré qu'un patient montrant une RC mais possédant un taux résiduel de cellules leucémiques peut rechuter à cause de la prolifération de ces dernières (63–65). Sur les recommandations de l'EMA, le critère de « MRD indétectable » (taux de cellules leucémiques inférieur à  $10^{-4}$ ) est associé à celui de la RC pour identifier les patients répondeurs dans les essais cliniques, même si son association avec la survie sans progression (PFS) reste à démontrer à plus long terme (66).

La MRD est habituellement quantifiée par cytométrie en flux ou, plus rarement, par PCR quantitative (qPCR) (67). Cela consiste à rechercher les cellules avec certaines spécificités comme l'expression des marqueurs CD19, CD20, CD5, CD43, CD79b, et CD81 (68).

## 1.6 Complications possibles et évolution de la maladie

La LLC est une maladie chronique qui s'étend généralement sur une durée de plusieurs années. Dans une étude incluant plus de 700 patients avec différents traitements, Weide et al. ont calculé une survie globale (OS) moyenne de 13.9, 9.2 et 7.9 années pour les stades A, B et C de Binet respectivement. Les innovations thérapeutiques incluant les anticorps monoclonaux et les inhibiteurs de Tyrosine kinase ont permis d'améliorer la survie ces dernières années (56). Aux Etats-Unis, le National Cancer Institute rapporte un taux de survie à cinq ans autour de 85% (étude entre 2009 et 2015) (3). Il est rare d'éradiquer complètement la maladie, sauf en cas de greffe de cellules souches. Les patients atteints de LLC se retrouvent donc généralement sous traitement et/ou suivis à vie. Avec une survie longue et le vieillissement de la population, on voit apparaître de plus en plus de complications se développant du fait de la LLC ou des traitements associés, et pouvant mener au décès du patient. Parmi ces complications, on compte l'apparition d'infections, de cancers secondaires ou de complications auto-immunes (69–72). Plusieurs études ont montré que les patients atteints de LLC sont particulièrement sujets à des infections, que ce soit parmi les patients traités ou non traités (70,73). L'apparition de ces infections peut être due à une hypogammaglobulinémie (déficit d'anticorps) et/ou à l'affaiblissement du système immunitaire suite aux différents traitements, notamment les chimiothérapies (70,74). Différentes bactéries à l'origine des infections ont été identifiées avec une prédominance d'*Escherichia coli* et *Streptococcus pneumoniae*. Les infections virales ou opportunistes (e.g. mycose, Herpes) sont aussi possibles. La Haute Autorité de Santé recommande la vaccination contre la grippe chaque année, ainsi que la vaccination antipneumococcique tous les cinq ans en cas de survenue d'infections pulmonaires (75). En cas d'infections à répétition, le patient peut également recevoir des injections régulières d'immunoglobulines (76). Les patients atteints de LLC sont aussi à risque pour le développement d'un second cancer (77). Parmi les cancers solides on retrouve principalement le développement de cancers de la peau, mais aussi des atteintes aux poumons, reins, colon, thyroïde, etc. Ils sont également à risque de développer de nouvelles hémopathies. L'apparition d'un lymphome agressif (le plus souvent lymphome diffus à grandes cellules B, plus rarement lymphome Hodgkinien) est appelée transformation de Richter. Elle touche 1 à 10% des patients et se traduit par un très mauvais pronostic (78,79). Enfin, les patients peuvent présenter des complications immunitaires : la destruction par auto-anticorps des globules rouges (anémie hémolytique) ou des plaquettes (purpura

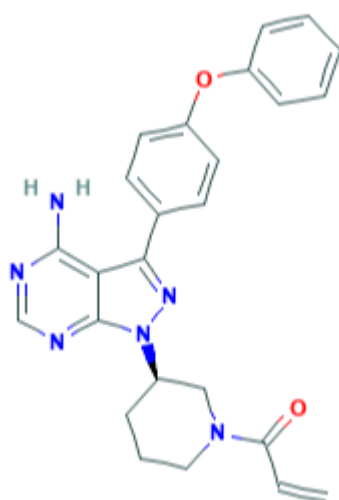
thrombopénique auto-immun), une aplasie des globules rouges, ou une neutropénie auto-immune (80).

Pour conclure, la LLC est une maladie hétérogène d'un point de vue biologique et clinique. Elle peut être prise en charge de différentes façons selon le degré de son agressivité, déterminé au moyen de différents facteurs pronostics. De nombreux médicaments indiqués pour le traitement de la LLC sont actuellement sur le marché. Nos travaux se concentrent sur deux molécules récentes appartenant à la classe des inhibiteurs de protéines kinases : l'ibrutinib et l'idelalisib.

## 2 Généralités sur l'ibrutinib

### 2.1 Propriétés physico-chimiques

L'ibrutinib a pour nomenclature 1-((3R)-3-(4-amino-3-(4-phenoxyphenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)piperidin-1-yl)prop-2-en-1-one. Sa formule brute est  $C_{25}H_{24}N_6O_2$ . Il s'agit d'une petite molécule contenant un groupe acrylamide. Sa structure chimique est présentée en Figure 3 (81).



**Figure 3 – Structure chimique de l'ibrutinib**  
*D'après (81)*

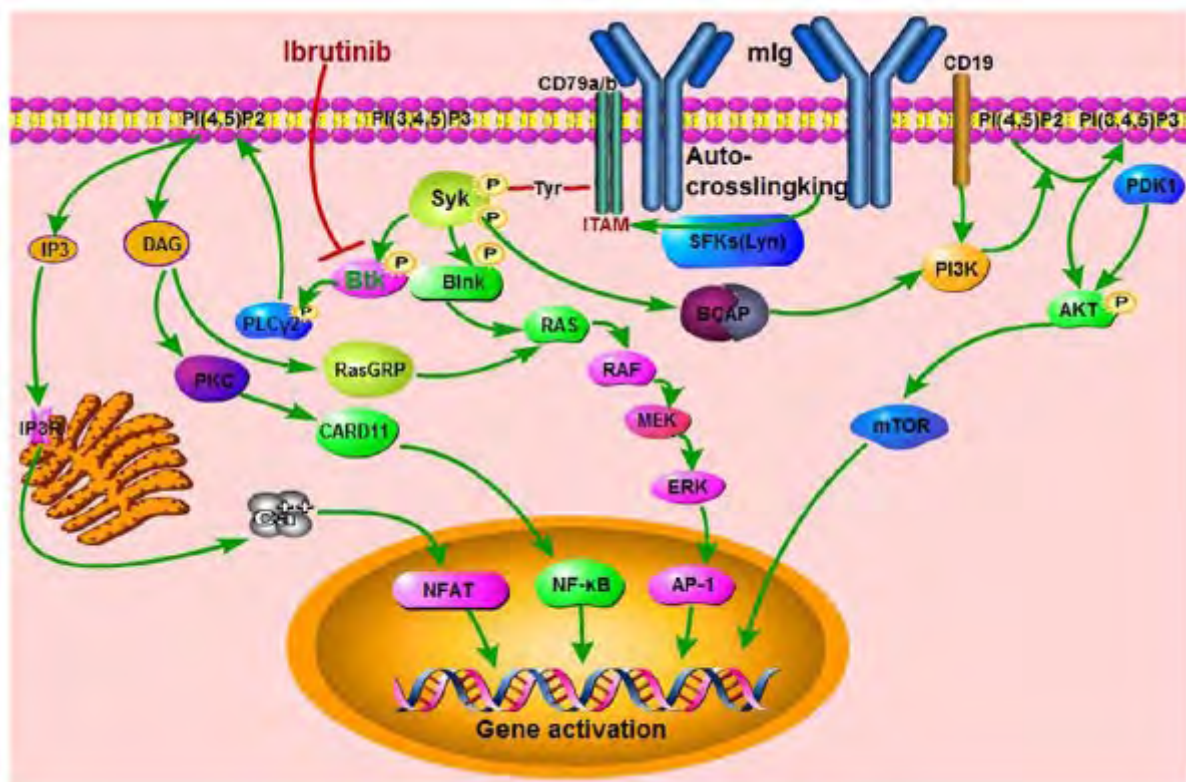
L'ibrutinib présente une masse molaire de 440.5 g/mol. Il est insoluble dans l'eau et les solutions aqueuses de pH compris entre 4.5 et 8. Il est également pratiquement insoluble dans les solvants non polaires. En revanche, il est soluble dans l'acétone et le méthanol, et très soluble dans le N,N-diméthylformamide, le tétrahydrofurane et le dichlorométhane. Son coefficient de partage octanol/eau (logP) est estimé à 3.97. Selon le Système de Classification Biopharmaceutique (BCS), l'ibrutinib est un composé de classe II, c'est-à-dire présentant une faible solubilité aqueuse mais une haute perméabilité intestinale (82). Le médicament sur le marché est nommé Imbruvica®, il est commercialisé par les laboratoires Janssen-Cilag sous forme de gélules contenant 140 mg d'ibrutinib.

## 2.2 Propriétés pharmacologiques

### 2.2.1 *Propriétés pharmacodynamiques*

L'ibrutinib agit par inhibition de la BTK et de la cascade de signalisation associée au BCR. Comme évoqué plus haut (section 1.2), le BCR est un récepteur membranaire caractéristique des lymphocytes B. Il est constitué d'une immunoglobuline de surface associée à la reconnaissance d'un antigène spécifique et d'une unité de signalisation composée d'un hétérodimère CD79a/CD79b, qui une fois phosphorylée va déclencher toute la cascade de signalisation associée (Figure 4). Chaque lymphocyte B exprime un seul type de BCR, qui est déterminé au moment de son développement dans la moelle osseuse, mais en présente plusieurs exemplaires. La transduction du signal au travers du BCR nécessite le pontage d'au moins deux récepteurs BCR (*cross-linking*). Le BCR joue un rôle essentiel dans le développement, la prolifération et la survie des lymphocytes B. Il a donc été exploré comme cible thérapeutique pour le traitement de plusieurs hémopathies malignes telles que la LLC, le LCM ou la MW.

La BTK joue un rôle central dans la transmission du signal associée au BCR. La BTK est une protéine non réceptrice de la famille des tyrosines kinases TEC. Elle est exprimée dans les lymphocytes B, mais aussi dans les cellules myéloïdes et érythroïdes, les plaquettes, les mastocytes, les macrophages, les cellules NK et les cellules myéloïdes suppressives. Elle a été mise en évidence pour la première fois en 1952 par le docteur Ogden Bruton qui a montré que l'immunodéficiência primaire de l'agammaglobulinémie liée à l'X (XLA), une forme rare d'agammaglobulinémie retrouvée chez l'Homme, est liée à la déficiencia du gène codant pour la BTK (83). Dans la cascade de signalisation du BCR, la BTK est activée par d'autres kinases comme Lyn et Syk. Puis à son tour, elle va phosphoryler et activer PLC $\gamma$ 2 qui va elle-même entraîner l'activation de PKC ainsi que la production d'ions calcium, ce qui aboutit à l'activation de facteurs de transcription (NF- $\kappa$ B et NFAT) nécessaires à la prolifération des lymphocytes B (Figure 4).



**Figure 4 – Schéma de la cascade de signalisation du BCR**  
*L'ibrutinib agit par inhibition irréversible de la BTK. D'après Zi et al. (84)*

L'ibrutinib se lie sur le résidu Cystéine 481 (Cys-481) de la BTK, ce qui a pour effet d'empêcher la liaison de l'adénosine triphosphate (ATP) et par conséquent la phosphorylation et l'activation de la BTK. La liaison covalente de l'ibrutinib à Cys-481 entraîne l'inhibition irréversible de la BTK. Des études *in vitro* ont montré que l'ibrutinib inhibe aussi neuf autres kinases qui, de façon similaire à BTK, présentent un résidu cystéine au niveau de leur site actif (ErbB4/HER 4, Blk, Bmx/Etk, Txk, Tec, EGFR, ErbB2/HER2, JAK3 et Itk). L'ibrutinib inhibe aussi de façon réversible la famille des kinases Src, Fgr, Lck, et Yes/YES1 (82). Il est donc possible que l'ibrutinib ait des effets dits « *off-target* » pouvant notamment entraîner l'apparition d'effets indésirables.

Il a été montré *in vitro* qu'une concentration d'ibrutinib égale à 200 nM menait à une occupation de 90% de la BTK dans des cellules mononucléées du sang. *In vivo*, chez la souris, une dose de 5 mg/kg administrée par voie intraveineuse (IV) ou intrapéritonéale (IP) et une dose de 50 mg/kg administrée par voie orale sont associées à une occupation complète de la BTK (82). L'étude d'escalade de dose PCYC-04753 menée chez l'Homme a montré qu'une dose de 2.5 mg/kg/jour (soit 175 mg/jour pour une personne de 70 kg) était la dose minimale permettant d'obtenir une occupation supérieure à 95% de la BTK (82,85). Pour toutes les doses supérieures à ce palier, l'occupation était supérieure à 90% 4

heures après administration et l'était toujours 24 heures après administration. La dose maximale testée était de 12.5 mg/kg/jour (soit 875 mg/jour pour une personne de 70 kg). Aucune toxicité dose-limitante (DLT) n'a été observée à ce dernier palier, la dose maximale tolérée (MTD) n'a donc pas été identifiée. A l'issue de cette étude, c'est la dose de l'avant-dernier palier (8.3 mg/kg/jour) qui a été recommandée.

### 2.2.2 Propriétés pharmacocinétiques

L'ibrutinib est un médicament administré par voie orale. Son absorption est assez rapide, le pic des concentrations est observé une à deux heures après la prise. L'ibrutinib a la particularité de présenter une biodisponibilité absolue très faible puisqu'elle n'est que de 3% en moyenne. L'absence d'ibrutinib dans les fèces indique que le médicament est totalement absorbé au niveau du tractus intestinal. Sa faible biodisponibilité est donc due à un effet de premier passage hépatique et intestinal très important. La prise de nourriture a un impact sur cette biodisponibilité : prendre l'ibrutinib en même temps que le repas permet d'augmenter la biodisponibilité. En effet l'exposition au médicament, mesurée par l'aire sous la courbe des concentrations (AUC), est deux fois plus importante dans ce cas, en comparaison avec une prise à jeun. Un effet similaire est observé dans le cas où l'ibrutinib est pris trente minutes avant le repas ou jusqu'à deux heures après celui-ci (82).

Une première analyse pharmacocinétique de population a montré que le volume de distribution apparent de l'ibrutinib était d'environ 10000 L, indiquant qu'il est largement distribué dans les tissus (86). L'ibrutinib et son métabolite actif, le dihydrodiol-ibrutinib, ont un fort taux de liaison aux protéines plasmatiques (97% et 91% respectivement) (82).

Une étude de *mass-balance* a permis de mettre en évidence un total de 40 métabolites formés à partir de l'ibrutinib. Trois principaux mécanismes de formation de ces métabolites ont été identifiés : hydroxylation du phényle, ouverture de la pipéridine puis réduction en alcool primaire ou oxydation en acide carboxylique et époxydation de l'éthylène suivie par une hydrolyse en dihydrodiol (87). C'est ce dernier mécanisme qui donne lieu à la formation du dihydrodiol-ibrutinib, métabolite actif de l'ibrutinib qui a été partiellement étudié. Son activité vis-à-vis de la BTK a été rapportée comme quinze fois inférieure à celle de l'ibrutinib (82). Le métabolisme a lieu dans le foie, notamment grâce à des enzymes particulières, principalement le cytochrome P450 3A4 (CYP3A4), mais également le cytochrome P450 3A5 (CYP3A5) avec une contribution plus modeste (<20%). L'élimination de l'ibrutinib se fait par sa métabolisation. La co-administration de kétoconazole (inhibiteur fort du CYP3A4) montre une augmentation de l'exposition, confirmant le rôle central du CYP3A4 dans la métabolisation et l'élimination de l'ibrutinib. Les résultats indiquent également que la métabolisation

du dihydrodiol-ibrutinib serait également gouvernée par le CYP3A4 (82). La demi-vie d'élimination de l'ibrutinib se situe entre 4 et 13 heures. Au niveau de la pharmacocinétique, aucune non-linéarité ou dépendance au temps n'a été identifiée (82).

## 2.3 Ibrutinib en clinique

### 2.3.1 *Essais cliniques et autorisation de mise sur le marché*

Les laboratoires Janssen-Cilag ont obtenu la première autorisation de mise sur le marché (AMM) pour l'ibrutinib de la part de la FDA en 2013 pour l'indication du LCM. Par la suite, l'ibrutinib a été approuvé dans les indications de la LLC (2014) et de la MW (2015). En 2016, la FDA autorise l'utilisation d'ibrutinib en première ligne de traitement de la LLC. S'en suivront d'autres indications : lymphome lymphocytaire (SLL) (2016), lymphome de la zone marginale réfractaire ou en rechute (2017), réaction du greffon contre l'hôte (GVH) chronique (2017). Plus récemment, la FDA autorise les combinaisons suivantes : ibrutinib et rituximab pour le traitement de la MW, ibrutinib et obinutuzumab pour le traitement en première ligne de la LLC. En France, étant donné son efficacité, l'ibrutinib a été commercialisé dès 2014 après avoir bénéficié d'une autorisation temporaire d'utilisation (ATU). Il a ensuite reçu des autorisations pour les indications du LCM réfractaire ou en rechute, de la MW pour des patients inéligibles à la chimiothérapie ou ayant déjà reçu au moins un traitement (seul ou en association avec le rituximab) et de la LLC pour des patients inéligibles à la chimiothérapie ou ayant déjà reçu au moins un traitement (seul ou en association avec la bendamustine et le rituximab). L'extension de l'indication de l'ibrutinib pour des patients atteints de LLC et non précédemment traités a ensuite été évaluée. La Haute autorité de santé (HAS) a néanmoins mis en évidence les limites des essais cliniques qui avaient été conduits, soulevant notamment le manque de comparaison directe entre l'ibrutinib et une alternative cliniquement pertinente (88). Ce n'est qu'en 2020, que la HAS reconnaît l'amélioration de service médical rendue par le traitement en monothérapie d'ibrutinib pour des patients non éligibles à un traitement à base de chimiothérapie (89).

Trois grandes études ont mené aux premières AMM de l'ibrutinib : une étude de phase Ib/II chez des patients atteints de LLC ou de SLL (étude PCYC-1102-CA, 2010-2013), une étude de phase II chez des patients atteints de LCM réfractaire ou en rechute (étude PCYC-1104-CA, 2011-2014) et l'étude randomisée de phase III RESONATE (2012-2018) qui comparait l'ibrutinib à l'ofatumumab chez des patients traités pour une LLC ou un SLL réfractaires ou en rechute. L'étude 1102 avait pour objectif principal d'étudier la toxicité d'ibrutinib chez des patients LLC/SLL. Au total, 132 patients ont été inclus dans l'étude dont 94 ont reçu une dose de 420 mg par jour et 38 une dose de 840 mg par jour (90,91).



L'étude 1104 avait pour objectif principal d'étudier l'efficacité de l'ibrutinib chez des patients LCM en rechute en réfractaires aux traitements précédents. Un total de 111 patients atteints de LCM de risque moyen à élevé ont été inclus (92). Ils ont reçu un traitement par ibrutinib à une dose fixe de 560 mg par jour. Après une médiane de 15 mois de suivi, la médiane de la durée de réponse était de 17.5 mois, celle de la PFS a été estimée à 13.9 mois, et la médiane de l'OS n'avait pas été atteinte. L'étude RESONATE a inclus 391 patients dont 195 dans le bras de traitement ibrutinib (420 mg par jour) et 196 dans le bras de traitement ofatumumab. Les résultats ont été analysés à différents temps de suivi (93–95). Les résultats finaux correspondent à une médiane de temps de suivi de 65.3 mois, avec un maximum de 71.6 mois dans le bras de traitement par ibrutinib. La PFS médiane était de 44.1 mois avec l'ibrutinib versus 8.1 mois avec l'ofatumumab (Hazard ratio de 0.148). Le résultat était le même pour les patients présentant des facteurs de mauvais pronostic (Hazard ratio de 0.110) (82% des patients inclus dans l'étude). Le taux de réponse global à ibrutinib était de 91%.

D'autres études cliniques ont été conduites pour évaluer l'efficacité et la toxicité de l'ibrutinib dans divers contextes pathologiques, en monothérapie ou en association avec d'autres médicaments (96–104). Les impressionnants résultats d'efficacité et de taux de réponse associés à un profil de toxicité acceptable (discuté ci-après) ont permis à l'ibrutinib de s'imposer sur le marché comme une alternative intéressante à la chimiothérapie. Les posologies recommandées sont actuellement de 420 mg par jour pour la LLC et la MW et de 560 mg par jour pour le LCM.

### 2.3.2 Interactions médicamenteuses

L'ibrutinib est principalement et largement métabolisé via l'enzyme CYP3A4, en particulier au moment de l'effet de premier passage hépatique. L'administration concomitante d'ibrutinib avec un inhibiteur ou un inducteur du CYP3A4 a donc des conséquences importantes sur les concentrations et l'exposition plasmatique. Une étude de cette interaction a été menée chez des volontaires sains qui ont reçu de l'ibrutinib en concomitance avec du kétoconazole (inhibiteur fort du CYP3A), de la rifampicine (inducteur fort du CYP3A) ou du jus de pamplemousse (inhibiteur modéré du CYP3A au niveau intestinal) (105). Ils ont trouvé que le kétoconazole augmentait l'AUC et la concentration maximale ( $C_{\max}$ ) (normalisés par la dose) 24 et 29 fois respectivement. En comparaison, l'effet du jus de pamplemousse était moindre avec une augmentation d'un facteur 3.5 et 2.2 respectivement. Pour la rifampicine, ils ont observé une diminution de l'AUC et du  $C_{\max}$  d'un facteur 13 et 10 respectivement. Dans une autre étude, 26 patients ont reçu 560 mg d'ibrutinib dans un premier temps puis 140 mg d'ibrutinib avec de l'érythromycine (inhibiteur modéré du CYP3A) puis du voriconazole (inhibiteur fort du CYP3A) (106). Ils ont observé une augmentation de l'AUC dose-normalisé d'un facteur 3 et 5.7 pour l'érythromycine et le voriconazole respectivement. Comme attendu, ces chiffres sont inférieurs à ceux

obtenus avec le kétoconazole qui est un inhibiteur du CYP3A bien plus puissant. Ils se sont également intéressés aux concentrations du métabolite dihydrodiol et ont constaté que la présence d'inhibiteurs du CYP3A résultait en une diminution des concentrations de ce dernier. Le ratio des AUC métabolite/parent passe de 1.2 (ibrutinib seul) à 0.5 (en présence d'érythromycine) ou 0.4 (en présence de voriconazole). L'ensemble de ces résultats ont également été retrouvés dans une approche de modélisation PBPK (Physiologically-based pharmacokinetics) (107). Ils indiquent que l'administration d'ibrutinib avec un inducteur ou un inhibiteur fort du CYP3A devrait être évitée et qu'une dose réduite à 140 mg par jour devrait être administrée en présence d'un inhibiteur modéré. En effet, une surexposition à l'ibrutinib augmente le risque de toxicité. Un patient recevant de 560 mg d'ibrutinib par jour pour le traitement de son LCM, et du vérapamil, un inhibiteur du CYP3A, pour le traitement de l'hypertension, a présenté une diarrhée sévère qui est l'un des effets indésirables connus de l'ibrutinib (108). L'épisode s'est finalement résolu après arrêt des deux médicaments. L'interaction entre l'ibrutinib et les inhibiteurs du CYP3A4 peut néanmoins être intéressante. En effet, Tapaninen et al. (109) ont conduit une étude où 140 mg d'ibrutinib étaient administrés chez des volontaires sains en concomitance avec de l'itraconazole, un inhibiteur fort du CYP3A. Ils ont montré que bien que l'AUC était augmentée d'un facteur 10, la biodisponibilité de l'ibrutinib était aussi augmentée et que la variabilité interindividuelle de l'AUC était diminuée, passant de 104% à 55%. Ils concluent que cette approche pourrait permettre une meilleure gestion de l'exposition à l'ibrutinib ainsi qu'une réduction des coûts importants liés à ce traitement.

Par ailleurs, des études *in vitro* ont montré que l'ibrutinib était un inhibiteur faible de certains cytochromes (CYP 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6 et 3A4/5) et que c'était également le cas de son métabolite dihydrodiol (CYP 2B6, 2C8, 2C9 et 2D6). Néanmoins ils ont aussi montré que l'ibrutinib et son métabolite étaient des inducteurs faibles des CYP. L'ibrutinib ne devrait donc pas avoir d'effet significatif sur les concentrations de médicaments substrats de ces enzymes.

Enfin, l'ibrutinib n'est pas substrat de la glycoprotéine P (P-gp) mais il en est un faible inhibiteur. Il n'existe pas de données cliniques sur le sujet mais il est tout de même recommandé de ne pas administrer l'ibrutinib en concomitance avec un médicament substrat de la P-gp présentant une marge thérapeutique étroite.

### 2.3.3 Effets indésirables

L'ibrutinib est un médicament globalement bien toléré par les patients. Les effets indésirables les plus fréquents – tous grades de sévérité confondus – sont la diarrhée, la fatigue, la toux et le développement d'infections des voies respiratoires supérieures. D'autres infections, des affections

gastro-intestinales et des affections cutanées sont aussi fréquentes. On peut également citer les cytopénies parmi les événements indésirables de grade supérieur ou égal à 3 les plus fréquents avec une prédominance de neutropénies, suivies de thrombocytopénies et d'anémies (95). Néanmoins les effets indésirables les plus préoccupants sont l'hypertension, la fibrillation atriale, et les hémorragies.

Le risque d'apparition de saignements de grades 1-2 (pétéchies et contusions) a été évalué à 50% dans les premiers essais cliniques de l'ibrutinib. Concernant les événements hémorragiques plus graves de grades 3 ou 4, un taux variant de 1 à 10% a été rapporté dans les principales études cliniques (110). Dans une étude rétrospective de vie réelle sur 70 patients traités par ibrutinib aux Etats-Unis, Mock et al. ont relevé un risque un peu plus important puisque 19% des patients ont présenté un événement de saignement de grade supérieur ou égal à 3 (111). L'analyse du risque de saignement est cependant difficile à établir car de nombreux patients prenant de l'ibrutinib prennent également des anticoagulants ou des antiplaquettaires. Dans une analyse regroupant les études PCYC-1102 et RESONATE, 11% des patients prenaient des anticoagulants et 34% des antiplaquettaires (112). Dans l'étude de Mock et al., ces chiffres étaient de 17% et 70%, indiquant que les conditions contrôlées des essais cliniques pourraient sous-évaluer les conditions de vie réelle. Concernant les anti-vitamines K, ils ont été exclus des essais cliniques et peu de données sont disponibles. Mock et al. ont trouvé que la prise concomitante d'un antiplaquettaire, d'un anticoagulant et de l'ibrutinib était associée à une augmentation du risque de saignement. Cependant d'autres facteurs semblent être associés avec l'augmentation de ce risque comme un INR (International Normalized Ratio) élevé, une thrombocytopénie, des comorbidités, ou la pathologie elle-même (111,112). Les mécanismes impliqués dans le risque de saignement ne sont pas totalement déterminés. En effet, on sait que la BTK, inhibée par l'ibrutinib, agit sur les glycoprotéines (GP) 1b et V1 qui agissent elles-mêmes sur le facteur de Willebrand et le collagène qui jouent un rôle essentiel dans l'agrégation et l'adhésion des plaquettes. Néanmoins, les patients atteints d'agammaglobulinémie liée à l'X ayant un défaut de BTK ne présentent pas ces saignements. Les recommandations liées au risque de saignement indiquées dans le résumé des caractéristiques produit (RCP) de l'ibrutinib sont les suivantes : ne pas administrer l'ibrutinib avec des anti-vitamines K, surveiller étroitement les patients prenant un anticoagulant ou un antiplaquettaire et, en cas de chirurgie, arrêter la prise d'ibrutinib 3 à 7 jours avant l'opération.

L'ibrutinib induit également des risques cardiaques avec notamment la survenue de fibrillations auriculaires (FA). La FA a été rapportée comme la première raison d'arrêt de l'ibrutinib liée à la toxicité (113). A 18 mois de suivi, 3 à 7% des patients sont touchés, et le chiffre augmente à 9-16% avec le prolongement du suivi (110). Il s'agit d'un effet indésirable d'importance clinique majeur puisque la FA est associée au risque d'accident vasculaire cérébral, de cardiomyopathie et de mortalité. En moyenne,

elle survient quatre mois après le début du traitement (114). La relation entre ibrutinib et FA n'a pas été clairement identifiée. Contrairement à d'autres inhibiteurs de tyrosine kinase, l'ibrutinib n'entraîne pas de prolongement de l'intervalle QT. Au travers de son action sur BTK et TEC, l'ibrutinib est à l'origine d'une régulation négative des voies de signalisation PI3k-Akt, notamment au niveau du cœur, ce qui pourrait être à l'origine de l'apparition d'une FA (110). Le risque est d'autant plus important chez les patients les plus âgés (plus de 65 ans) de sexe masculin ayant de l'hypertension et des antécédents de problèmes cardiaques (113). En cas de FA, il est recommandé de diminuer la dose d'ibrutinib. Le clinicien peut également avoir recours à des bêtabloquants. Toujours en lien avec l'altération de la fonction cardiaque, quelques cas d'arythmie ventriculaire et/ou de décès soudains liés à une cause cardiaque sous ibrutinib ont été rapportés (115). Le risque d'hypertension est également élevé. Dans (116), Byrd et al. rapportent l'hypertension comme l'évènement indésirable de grade supérieur ou égal à 3 le plus fréquent avec 20% des patients touchés. L'hypertension peut être un précurseur de l'apparition de FA et doit être étroitement surveillée.

Le risque d'infection a été rapporté dans de nombreuses études. Dans une méta-analyse regroupant sept études et 2167 patients dont 1115 étaient traités par ibrutinib et 1052 étaient dans le groupe contrôle, 46% de cas d'infections ont été répertoriés sous ibrutinib versus 37% dans le groupe contrôle (117). En majorité, il s'agissait d'infections des voies respiratoires supérieures ou de pneumonies. Des infections fongiques, dont des aspergilloses pulmonaires invasives, ont également été rapportées (118). Le risque d'infection était significativement plus important dans le groupe de traitement par ibrutinib, que ce soit en considérant tous les grades ou uniquement les grades supérieurs ou égal à 3 (117).

Enfin, la réactivation du virus de l'Hépatite B a été observée chez des patients traités par ibrutinib précédemment infectés. Dans une étude incluant 412 patients traités par ibrutinib, 21 présentaient une précédente infection par le virus de l'Hépatite B. Parmi eux, deux (soit 9.5%) ont développé une réactivation du virus (119). Les patients concernés doivent donc faire l'objet d'un suivi particulier.

L'analyse des résultats des études RESONATE (195 patients) et RESONATE-2 (133 patients) montrent que le taux d'effets indésirables diminue au cours du temps. En réponse à ces effets indésirables, le clinicien peut décider de diminuer la dose initiale ou bien, dans certain cas, d'arrêter le traitement.

#### *2.3.4 Interruption du traitement*

Les essais cliniques évaluant l'efficacité de l'ibrutinib ont montré des taux de réponse élevés et durables. Dans les études RESONATE et RESONATE-2, le taux de réponse global était de 91% et 92% respectivement (95,101). Dans l'étude RESONATE, la PFS médiane était de 44 mois. Dans l'étude

RESONATE-2 la médiane de la PFS n'avait pas été atteinte après 60 mois de suivi. Des études en vie réelle ont également confirmé ces taux de réponse élevés : une étude suédoise a montré un taux de réponse de 84% chez 95 patients traités par ibrutinib pour différentes hémopathies malignes avec une médiane de la PFS qui n'avait pas été atteinte à 10 mois de suivi (120). Dans une autre étude en vie réelle sur 616 patients, la médiane de la PFS était de 35 mois (121). Néanmoins, malgré des taux de réponse importants et une bonne tolérance de l'ibrutinib, certains patients finissent par arrêter leur traitement. Jain et al. ont analysé les raisons de cet arrêt (122). Leur étude comprenait un total de 320 patients atteints de LLC et traités par ibrutinib, en première ligne ou après une rechute, parmi lesquels 90 (28%) ont arrêté leur traitement. Le temps médian de l'arrêt était de 15 mois de traitement. Les principales raisons d'arrêt étaient la toxicité (29 patients) et la progression de la maladie (19 patients). Les autres causes d'arrêt étaient variées (décès, second cancer, transplantation de cellules souches hématopoïétiques, etc.). Dans une autre étude, Mato et al. ont analysé les données de 616 patients traités par ibrutinib pour une LLC dans différents hôpitaux américains (121). Parmi eux, 41% ont stoppé leur traitement. L'étude a également mis en évidence que les principales raisons d'arrêt du traitement étaient la toxicité (temps médian d'arrêt à 6 mois, 21% des patients) et la progression de la maladie (temps médian d'arrêt à 10 mois, 8% des patients).

Une des causes sous-jacentes à l'arrêt du traitement par ibrutinib en raison de la progression de la maladie est le développement d'une résistance à l'action de ce médicament. Certains patients montrent une résistance primaire à l'ibrutinib (123). Dans d'autres cas, les patients montrent une réponse au traitement avant de rechuter. Diverses mutations peuvent être à l'origine de cette résistance. Furman et al. rapportent un cas de résistance à l'ibrutinib chez une patiente traitée pour une LLC (124). Un séquençage ARN a révélé une mutation au nucléotide 1634 de la séquence d'ADN complémentaire de la BTK. A cette position, la thymine avait été substituée par une adénine, ce qui a remplacé la cystéine 481 à laquelle se lie l'ibrutinib par une sérine (mutation C481S). Une modélisation de la structure de la BTK a montré que cette modification perturbait la liaison de l'ibrutinib à la BTK, la rendant réversible (Figure 5). L'étude du clone mutant en culture cellulaire a permis de montrer que ce dernier était beaucoup moins sensible à l'inhibition de la BTK par l'ibrutinib. La mutation C481S a été mise en évidence dans plusieurs études, chez des patients atteints de LLC ou de LCM (125,126).



**Figure 5 – Mécanisme de résistance à l'ibrutinib dans le cas de la mutation C481S de la BTK**  
*D'après Furman et al. (124)*

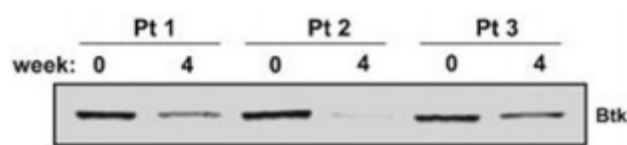
Une autre mutation a été identifiée au niveau de PLC $\gamma$ 2, une autre protéine kinase activée par BTK dans la voie de signalisation du BCR. Il semblerait que la mutation de PLC $\gamma$ 2 permette l'activation de la cascade de signalisation indépendamment de BTK (127). Des études ont mis en évidence que des patients atteints de LCM montraient une activation de voies de signalisations alternatives n'impliquant pas BTK (128). Chiron et al. ont trouvé que chez six patients atteints de LCM, la résistance était due à l'activation de la voie PI3K-AKT en amont de l'intervention de la BTK dans la cascade de signalisation du BCR (125). Rahal et al. ont également mis en évidence que l'activation de la voie NF $\kappa$ B, qui découle normalement des signaux du BCR, pouvait être activée alternativement dans des cas de résistance à l'ibrutinib (129).

En cas de résistance à l'ibrutinib, d'autres inhibiteurs de la BTK peuvent être utilisés. On peut également se tourner vers des inhibiteurs ciblant d'autres kinases (123). Le venetoclax qui cible BCL2 est une des alternatives les plus employées actuellement (130). L'utilisation de combinaisons de médicaments plutôt que la monothérapie d'ibrutinib est également envisagée pour diminuer les risques de résistance (122). Plusieurs études cliniques étudient actuellement l'efficacité de différentes combinaisons (84).

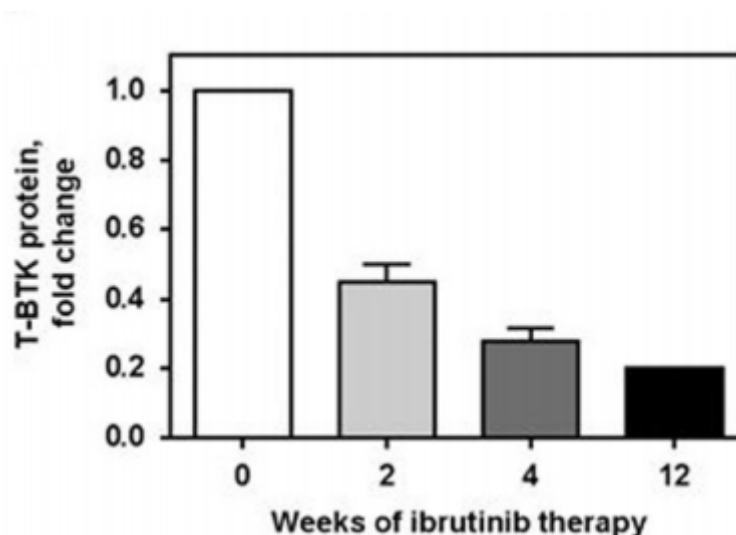
#### 2.3.5 Rationnel de dose

L'équipe du Professeur Varsha Gandhi a étudié le niveau de BTK au cours du temps chez des patients atteints de LLC et traités par ibrutinib (131). Ils ont d'abord analysé les cellules leucémiques de trois patients prélevées à  $t_0$  – juste avant le début du traitement – puis quatre semaines plus tard. En utilisant la technique du western blot, ils ont observé de façon qualitative que chez ces trois patients le taux de BTK avait diminué entre 0 et 4 semaines (Figure 6). Ils ont ensuite fait une comparaison

globale des valeurs à 0, 2, 4 et 12 semaines de traitement, mais avec à disposition seulement 2 à 5 échantillons par temps de mesure. Ils ont observé que le taux de BTK diminuait au cours du temps (Figure 7).



**Figure 6 – Comparaison du niveau de BTK avant le début du traitement et 4 semaines plus tard**  
D'après Cervantes-Gomez et al. (131)



**Figure 7 – Comparaison du niveau de BTK au cours du temps**  
D'après Cervantes-Gomez et al. (131)

En s'appuyant sur ces résultats et en supposant que la relation entre l'ibrutinib et la BTK était stœchiométrique, ils ont émis l'hypothèse que la dose d'ibrutinib pouvait être réduite au cours du temps, sans que cela n'impacte l'occupation de sa cible et par conséquent l'efficacité du traitement. Pour tester cette hypothèse, ils ont mis en place une étude clinique pilote chez onze patients (132). Dans cette étude, les patients recevaient trois cycles de 28 jours de traitement par ibrutinib. Les doses administrées aux cycles 1, 2 et 3 étaient de 420 mg, 280 mg et 140 mg respectivement. Ils ont mesuré l'occupation de la BTK au cours de ces trois cycles. Au total, huit patients ont complété les trois cycles de traitement. Parmi les échantillons testés, tous sauf un démontraient une occupation de la BTK

supérieure à 97%, quel que soit le cycle de traitement, indiquant qu'une réduction de dose n'impacterait pas l'occupation de la cible et par conséquent l'efficacité clinique du traitement.

D'autres études ont montré que l'issue clinique était similaire entre les patients recevant la dose standard de 420 mg et ceux recevant une dose réduite (133,134). Mato et al. ont présenté une étude rétrospective multicentrique sur 197 patients atteints de LLC traités par ibrutinib (133). Au total, 37 patients (19%) ont reçu une dose réduite (< 420 mg) pendant au moins deux mois durant les trois premiers mois de traitement. La PFS et l'OS n'étaient pas significativement différentes entre les patients ayant reçu la dose standard et ceux ayant reçu une dose réduite. Le même résultat a été obtenu par Akhtar et al. chez 70 patients dont 23 avaient eu une réduction de dose. Sur 22 mois de suivi en moyenne, la PFS et l'OS étaient similaires, quel que soit le moment où la réduction de dose avait eu lieu (134). Ces résultats posent donc la question de la possibilité de réduire la dose d'ibrutinib au cours du traitement. Cette réduction aurait plusieurs avantages : la diminution du risque de toxicité pour les patients, la limitation des effets *off-target* de la molécule et la réduction des coûts liés à ce traitement onéreux (135).

## 2.4 Effets de l'ibrutinib sur les cellules de la LLC

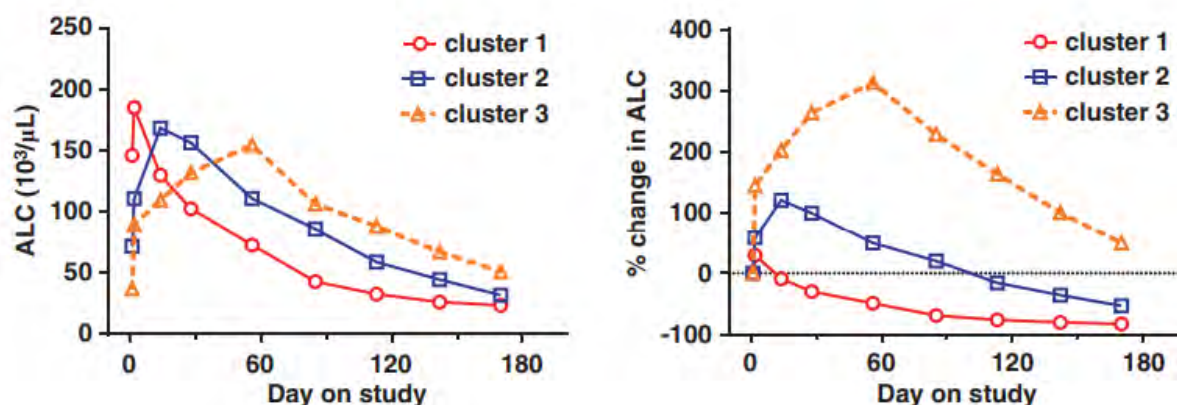
L'ibrutinib a plusieurs effets sur les cellules leucémiques de la LLC et leur microenvironnement. Il inhibe leur prolifération, leur migration, leur adhésion et leur survie (136–138). Burger et al. ont étudié les dynamiques de cellules leucémiques radiomarquées chez des patients atteints de LLC, avant et après traitement par ibrutinib (138). Ils ont trouvé que le taux de prolifération moyen des cellules passait de 0.39% par jour à 0.05% par jour et que le taux de mortalité passait de 0.18% par jour à 1.5% par jour. L'ibrutinib agit également sur le microenvironnement des cellules en inhibant la formation des chemokines CLC3 et CLC4 et la chimiotaxie des cellules pour les chemokines CXCL12 et CXCL13 et CCL19 qui sont responsables du phénomène de homing (137,139). Il diminue également l'expression du récepteur CXCR4 (140).

Le taux de lymphocytes circulants est un indicateur important dans la LLC. Les patients atteints de cette pathologie ont des taux de lymphocytes dans le sang très supérieurs à la moyenne, c'est d'ailleurs le premier signe d'alerte pouvant mener au diagnostic de la LLC. Le but du traitement de la LLC est de réduire et de stabiliser le taux de lymphocytes à une valeur normale. Paradoxalement, l'administration d'ibrutinib (et plus généralement d'inhibiteurs du BCR) a la particularité de provoquer une lymphocytose, c'est-à-dire une augmentation du taux de lymphocytes dans le sang, en début de traitement. A première vue, la lymphocytose pourrait être associée à une progression de la maladie,



puisque'il s'agit effectivement d'un facteur lié à la progression (Cf. section 1.6). Néanmoins, il a été montré que cet effet était transitoire et asymptomatique (141). En l'absence d'autres symptômes, il n'est donc pas considéré comme une progression de la maladie. Il serait plutôt dû au « relargage » des lymphocytes accumulés dans les tissus lymphoïdes vers la circulation sanguine. Cela s'explique par l'inhibition de l'adhésion et de l'attraction (homing) des cellules circulantes vers les tissus et non pas par l'augmentation de la prolifération (137,142). Durant les essais cliniques, la lymphocytose a été définie par un taux de lymphocytes circulants supérieur à 5 G/L associé à une augmentation de plus de 50% en comparaison avec la valeur basale observée avant le début du traitement. Cette phase de lymphocytose était considérée comme résolue lorsque le patient était retombé à un nombre de lymphocytes inférieur ou égal à la valeur basale, ou à un nombre inférieur à 5 G/L. Barrientos et al. ont analysé les résultats de deux études de phase III, RESONATE (ibrutinib vs. ofatumumab) et RESONATE-2 (ibrutinib vs. chlorambucil) (141). Ils ont trouvé que 57% des patients atteints de LLC traités par ibrutinib en première ligne et 69% des patients traités en deuxième ligne ou plus (patients réfractaires ou en rechute) ont montré une lymphocytose. Le phénomène s'étend essentiellement sur les premiers mois de traitement avec un pic atteignant une augmentation de 100 à 200% par rapport à la valeur basale et observé en moyenne après 4 à 6 semaines de traitement.

Herman et al. (142) ont observé que le nombre de lymphocytes augmentait chez tous les patients au début du traitement par ibrutinib. Néanmoins cette augmentation est extrêmement variable entre les patients. La phase de lymphocytose ne dure pour certains que quelques jours, versus plusieurs semaines pour d'autres. Grâce à une méthode de classification non supervisée, ils ont identifié trois groupes de patients en fonction de la cinétique des lymphocytes (Figure 8). Dans le premier groupe le pic de lymphocytes est atteint en quelques jours et la phase de lymphocytose se termine rapidement. Inversement dans le troisième groupe on observe une forte augmentation relative des lymphocytes et un retour à la valeur basale beaucoup plus lent. Le deuxième groupe est intermédiaire. Ils ont trouvé que les patients du groupe 1 avaient un taux basal de lymphocytes plus important que ceux du groupe 3.



**Figure 8 – Différents profils de lymphocytose observés chez les patients atteints de LLC et traités par ibrutinib**  
D'après Herman et al. (142)

Dans une analyse des résultats de l'étude RESONATE après deux ans de suivi, Brown et al. ont montré que la PFS était significativement meilleure chez les patients ayant présenté une lymphocytose (69% des patients) (143). Cette tendance était toujours visible mais non significative après 56 mois de suivi (141). En revanche, dans l'étude RESONATE-2, aucune différence n'a été observée en termes de PFS entre les deux groupes, à 49 mois de suivi. Woyach et al. (144) ont analysé les patients de l'étude PCYC-1102 à un an de suivi et ont trouvé une tendance à une meilleure PFS dans le groupe de lymphocytose mais ce résultat n'était pas statistiquement significatif. Par la suite, Byrd et al. ont présenté les résultats de la combinaison des deux études PCYC-1102 et PCYC-1103 à 3 ans de suivi (116). Ils concluent que la PFS était « similaire à meilleure » dans le groupe de patients présentant une lymphocytose. Ces études suggèrent donc qu'il y aurait un lien entre la lymphocytose et la réponse clinique. Il faut néanmoins savoir que parmi les patients présentant une lymphocytose prolongée, on retrouve plus de patients avec un IgHV muté ou présentant la délétion del(13)q, facteurs de bon pronostic pour la LLC (116,141,142,144).

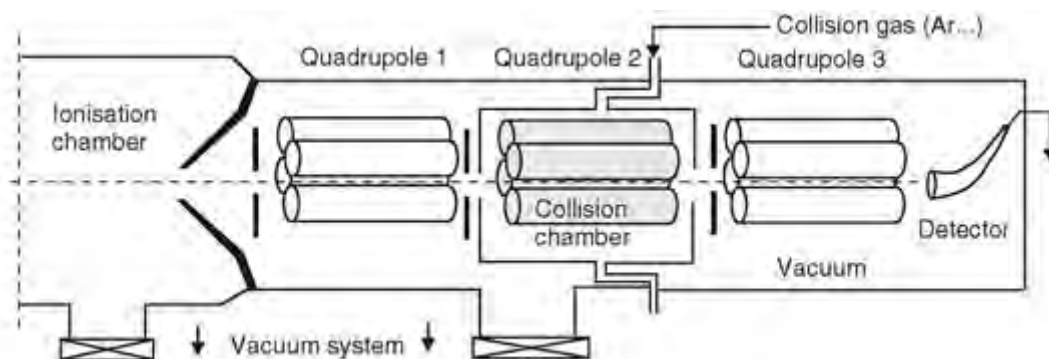
## 2.5 Dosage de l'ibrutinib

Différentes équipes ont mis au point des méthodes de quantification des concentrations d'ibrutinib (145–151). La technique la plus utilisée pour le dosage est la chromatographie liquide (LC) à haute ou ultra haute performance/pression (HPLC, UHPLC), couplée à de la spectrométrie de masse (MS).

La HPLC et l'UHPLC sont des techniques permettant de séparer plusieurs espèces moléculaires contenues dans un mélange complexe. Cette séparation se fait de façon dynamique sur des colonnes chromatographiques, grâce aux interactions entre la phase stationnaire, qui a une chimie adaptée aux molécules à séparer, et les phases mobiles, qui ont une composition adaptée pour entraîner et séparer, via l'interpolation de gradient, les molécules du mélange. Les différentes molécules à séparer sont injectées dans le système et sont entraînées par les différentes phases mobiles. En fonction de leurs caractéristiques physicochimiques, et des conditions du mélange des phases mobiles, elles migrent plus ou moins rapidement le long de la colonne, ce qui permet une séparation des différentes espèces. Avec la HPLC/UHPLC, la performance du système de chromatographie liquide a été améliorée par l'augmentation de la pression liquidienne et de la taille et la granulométrie de la phase stationnaire. Cela a permis une amélioration de la séparation et de la résolution chromatographique. La HPLC/UHPLC est utilisée en amont du système de détection, pour séparer au mieux les différents composés contenus dans un mélange complexe et ainsi optimiser l'étape de détection et de quantification des molécules d'intérêt.

La spectrométrie de masse est une méthode de détection, qui permet d'identifier et de quantifier des molécules d'intérêt en fonction de leur masse et de leur fragmentation. Elle consiste en plusieurs étapes : les molécules sont d'abord ionisées dans une source d'ionisation, puis elles sont sélectionnées et séparées en fonction de leur rapport masse sur charge ( $m/z$ ) et de leur fragmentation dans un tube à vide appelé analyseur, enfin elles sont quantifiées au niveau du détecteur. Il existe plusieurs sortes de sources d'ionisation et d'analyseurs. Un des analyseurs les plus utilisés pour la quantification est le quadripôle. Il est constitué de quatre électrodes sur lesquelles sont appliqués des potentiels électriques positifs et négatifs de façon alternative. Selon les potentiels appliqués, le quadripôle laissera passer des ions de rapports  $m/z$  différents. Les intérêts de l'analyseur quadripolaire sont sa linéarité et sa robustesse pour la quantification des molécules. On distingue deux principaux modes de détection : SRM pour *Selected Reaction Monitoring* et MRM pour *Multiple Reaction Monitoring*. Le mode SRM ne permet de suivre qu'une seule molécule à la fois, caractérisée par son ion moléculaire (appelé ion parent), et fragmenté en un ion représentatif (appelé en ion fils). La fragmentation de l'ion parent en ion fils correspond à une « transition ». Le mode MRM permet en revanche de suivre et de quantifier plusieurs molécules à la fois ayant chacune des transitions ion parent → ion fils différentes. Le mode MRM permet d'avoir une meilleure spécificité, il permet d'augmenter considérablement la limite de détection des composés par une sélection spécifique des fragments de l'ion étudié. Le spectromètre de masse est souvent utilisé en tandem (MS/MS) avec l'association de trois quadripôles. Le premier quadripôle sert à sélectionner les ions parents issus de l'ionisation des molécules d'intérêt, le second est une cellule de collision qui permet fragmenter les ions parents en ions fils, qui sont

ensuite eux-mêmes sélectionnés par le troisième quadripôle (Figure 9). Une seconde transition peut être obtenue par la fragmentation de l'ion fils en ion de confirmation. Ainsi, chaque molécule est caractérisée par son temps de rétention sur le système de LC, puis par plusieurs transitions correspondant aux différents ions obtenus dans le système de MS. Mises ensemble, ces informations constituent une signature unique permettant de quantifier chaque molécule sans aucun doute sur son identité.



**Figure 9 – Spectrométrie de masse en tandem avec un système à 3 quadripôles**  
D'après (152)

Dans les études citées ci-dessus, l'ibrutinib était dosé seul (148,150), avec un ou plusieurs de ses métabolites (145,146,149,151) ou en simultané avec d'autres médicaments (147,149). Dans toutes les études, excepté (148), la détection était réalisée par spectrométrie de masse en tandem avec un système de triple quadripôle. Chaque molécule était identifiée et quantifiée grâce à deux transitions en mode MRM. L'ionisation s'effectuait dans la plupart des cas par une source d'ionisation du type electrospray (ESI) en mode positif. La limite de quantification, définie par le point bas de la gamme de calibration, variait de 0.05 à 10 ng/mL. Le point haut de gamme variait de 30 à 5000 ng/mL. La matrice était principalement du plasma, sauf dans le cas du groupe de Beauvais et al. (145) où il s'agissait de liquide cébrospinal. Les analyses étaient réalisées sur des échantillons obtenus chez l'Homme ou chez l'animal (rat ou souris). La technique d'extraction de l'ibrutinib dans les échantillons plasmatiques était la précipitation de protéines ou l'extraction liquide-liquide. Enfin, les prises d'essai dans les différents échantillons variaient de 20 à 200 µL.

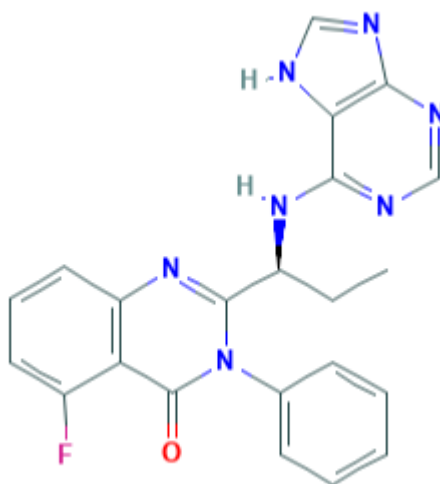
Dans cette partie nous avons pu faire un état des lieux des connaissances sur l'ibrutinib, le premier inhibiteur du BCR à avoir été approuvé sur le marché et indiqué pour le traitement de la LLC. Cette

molécule a révolutionné la prise en charge de la LLC en proposant une solide alternative aux traitements par chimiothérapie avec des taux de réponse importants et une bonne tolérance de la part des patients. Dans la même idée, d'autres petites molécules inhibitrices ont été développées pour le traitement des hémopathies malignes. Parmi elles, un autre inhibiteur du BCR, l'idelalisib, a obtenu son autorisation de mise sur le marché dans l'indication de la LLC peu après l'ibrutinib.

### 3 Généralités sur l'idelalisib

#### 3.1 Propriétés physico-chimiques

L'idelalisib, a pour nomenclature 5-Fluoro-3-phenyl-2-[(1S)-1-(9H-purin-6-ylamino)propyl]quinazolin-4(3H)-one. Sa formule brute est  $C_{22}H_{18}FN_7O$ . Sa structure chimique est présentée en Figure 10 (153).



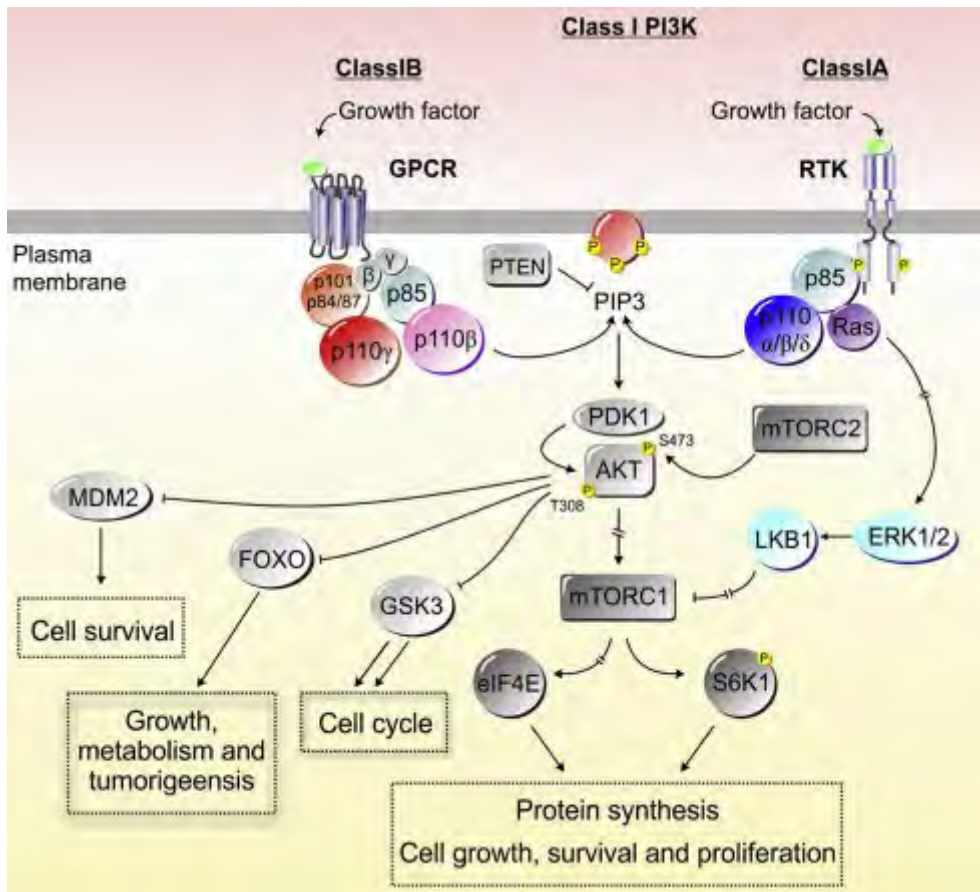
**Figure 10 – Structure chimique de l'idelalisib**  
*D'après (153)*

L'idelalisib présente une masse molaire de 415.4 g/mol. Il se présente sous forme d'une poudre blanche. Il est insoluble dans l'eau à pH 7 mais soluble à pH 1.2 (154). Son logP est estimé à 3.88. L'idelalisib présente une faible solubilité aqueuse mais une haute perméabilité intestinale, il est classifié comme un médicament de BCS classe II (155). Le médicament sur le marché est nommé Zydelig®, il est commercialisé par les laboratoires Gilead Sciences sous forme de comprimés pelliculés dosés à 100 mg ou à 150 mg d'idelalisib.

## 3.2 Propriétés pharmacologiques

### 3.2.1 *Propriétés pharmacodynamiques*

L'idelalisib agit par inhibition sélective de l'isoforme  $\delta$  de la classe I des phosphoinositide 3-kinases (PI3K $\delta$ ). Les PI3Ks sont une famille de kinases comprenant huit isoformes répartis en trois classes (I, II et III) selon leur structure et leurs substrats. La classe I comprend les sous-classes IA et IB. Les PI3Ks de classe IA sont des hétérodimères composés d'une unité régulatrice (p85) et une unité catalytique (p110). La classe IA contient PI3K $\alpha$ , PI3K $\beta$  et PI3K $\delta$  (unités catalytiques p110 $\alpha$ , p110 $\beta$  et p110 $\delta$  respectivement). La classe IB contient quant à elle la PI3K $\gamma$  (unité catalytique p110 $\gamma$ ). Les unités p110 $\alpha$  et p110 $\beta$  sont largement exprimées dans de nombreux tissus, alors que p110 $\delta$  et p110 $\gamma$  sont principalement retrouvées dans les leucocytes (156). L'activation de récepteurs à activité tyrosine kinase (RTK) ou de récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) entraîne le recrutement des PI3Ks au niveau de la membrane plasmique. L'unité p110 intervient alors dans la transformation du PIP2 (phosphatidylinositol-4,5-biphosphate) en PIP3 (phosphatidylinositol3,4,5-triphosphate), un lipide messager qui est à l'origine de l'activation de nombreuses voies cellulaires. Notamment, PIP3 recrute AKT qui est impliqué dans la prolifération et la survie cellulaire (Figure 11). La voie de signalisation PI3K/AKT est également activée via le BCR (157). Cette cascade de signalisation est impliquée dans de nombreux cancers. En effet, la mutation du gène PIK3CA (gène codant pour l'unité p110 $\alpha$ ), la perte du gène PTEN qui régule PIP3, la mutation d'AKT ou l'amplification des RTKs sont des anomalies génétiques fréquentes menant à la surexpression de la voie PI3K/AKT liée à l'apparition de cancers (158,159).



**Figure 11 – Voie de signalisation PI3K/AKT**

*D'après De Santis et al. (156)*

Le rôle des PI3Ks dans l'apparition de cancers en a donc fait une cible thérapeutique privilégiée. De nombreux inhibiteurs sont en développement mais l'idelalisib est le seul à être actuellement sur le marché. L'idelalisib cible spécifiquement la PI3K $\delta$  qui est un élément clé dans plusieurs voies de signalisation impliquées dans la prolifération, la survie, la motilité, et la rétention des cellules leucémiques de différentes hémopathies malignes B, dont le BCR. Dans des cellules issues d'hémopathies malignes, l'idelalisib bloque la voie de signalisation PI3K $\delta$ /AKT ce qui entraîne une inhibition de la prolifération cellulaire et une stimulation de l'apoptose. L'idelalisib est un inhibiteur compétitif du site de liaison de l'ATP sur p110 $\delta$ . Cette inhibition est réversible (155). Les différences structurales entre les différents isoformes font que l'idelalisib est un inhibiteur spécifique de la PI3K $\delta$ . Dans une étude *in vitro*, l'IC<sub>50</sub> de l'idelalisib pour PI3K $\delta$  a été estimé à 19 nM alors qu'il est de 8600, 4000 et 2100 nM pour PI3K $\alpha$ , PI3K $\beta$  et PI3K $\gamma$  respectivement (154). De plus, aucune activité significative sur d'autres kinases n'a été observée (155).



### 3.2.2 Propriétés pharmacocinétiques

L'idelalisib est un médicament administré par voie orale. Son absorption est rapide puisque le pic des concentrations est observé 0.5 à 1.5 heures après une prise à jeun, et de 2 à 4 heures après une prise durant le repas. Sa biodisponibilité est estimée à 74%. L'idelalisib présente une forte perméabilité intestinale sur les cellules Caco2 avec un taux d'efflux encore plus important. Le ratio B-A/A-B est de 12.2 à une concentration de 1  $\mu$ M, mais diminue quand la concentration augmente (ratio de 2.8 à 50  $\mu$ M), probablement à cause de la saturation des transporteurs d'efflux. L'exposition à l'idelalisib est proportionnelle à la dose pour une dose allant jusqu'à 100 mg, puis en dessous de la proportionnalité à partir de 150 mg, ce qui est dû à une absorption limitée par la solubilité du produit (155,160).

Le volume de distribution apparent de l'idelalisib est de 96 L. Aux niveaux de concentrations observés en clinique, l'idelalisib se lie aux protéines plasmatiques à hauteur de 93%. Le ratio sang/plasma après une prise unique de 150 mg a été estimé à 0.5 (154,155).

L'idelalisib est majoritairement métabolisé par l'aldéhyde oxydase (AO) menant à la formation de son principal métabolite, GS-563117. Les cytochromes CYP3A4, CYP3A5 et l'UGT1A4 participent également à la métabolisation de l'idelalisib. Le métabolite GS-563117 est le seul métabolite circulant, il ne présente aucune activité vis-à-vis de la PI3K $\delta$ . Sa concentration plasmatique est 2 à 4 fois plus élevée que celle de son parent. Il est éliminé via les CYP3A et UGT1A4. La demi-vie d'élimination moyenne de l'idelalisib est de 8.2 heures et sa clairance moyenne est de 14.9 L/h. Il est excrété principalement dans les fèces (78%) et dans l'urine (14%) (154,155,161). Des études de pharmacocinétique ont été menées chez les patients présentant une atteinte hépatique ou rénale (162,163). Aucun changement significatif n'a été observé chez les patients atteints d'insuffisance rénale. Pour les patients présentant une insuffisance hépatique sévère, la concentration maximale est inchangée mais l'AUC est augmentée de 60%. Toutefois cette augmentation n'a pas été associée à un changement au niveau de la tolérance, ce qui n'a pas entraîné de recommandations particulières dans cette population.

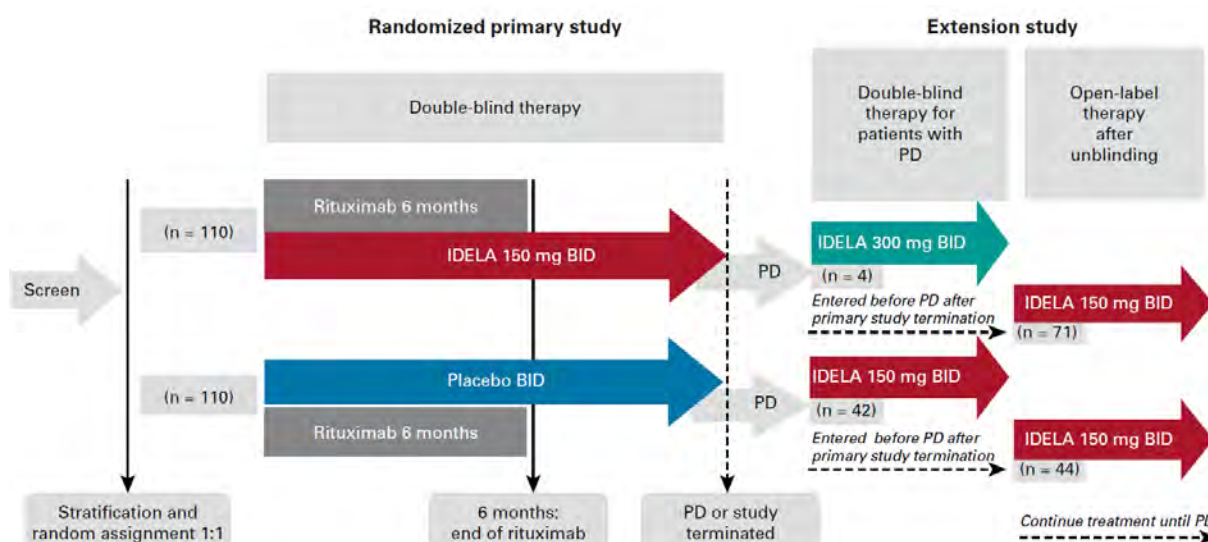
## 3.3 Idelalisib en clinique

### 3.3.1 Essais cliniques et autorisation de mise sur le marché

L'idelalisib a obtenu son autorisation de mise sur le marché de la part de la FDA en 2014. L'autorisation concernait le traitement de la LLC, en association avec le rituximab, chez des patients pour lesquels l'administration du rituximab seul n'était pas jugée adéquate en raison de leurs comorbidités. L'idelalisib a également obtenu une autorisation accélérée pour le traitement de deux lymphomes non-

hodgkiniens (LNH), le SLL et le LF, chez des patients ayant déjà reçu au moins deux thérapies. Les mêmes autorisations ont été attribuées par l'EMA en 2014.

L'étude de phase Ib 101-02 était une étude d'escalade de dose chez 191 patients atteints de diverses hémopathies des cellules B (LNH dont LF et SLL, LLC, LM, etc.) en rechute. Les patients ont reçu des doses variant de 50 à 350 mg, une ou deux fois par jour. A l'issue de cette étude, la dose de 150 mg administrée deux fois par jour (BID) a été retenue (154,164,165). Une des principales études sur l'efficacité clinique de l'idelalisib chez les patients atteints de lymphome est l'étude de phase II 101-09. Il s'agit d'une étude multicentrique internationale incluant 125 patients réfractaires au rituximab ou aux agents alkylants, dont 72 atteints de LNH. Les patients ont reçu 150 mg d'idelalisib BID. Le taux de réponse était de 57% dont 6% de réponses complètes. La médiane de la PFS était de 11 mois (166). Pour la LLC, la principale étude d'efficacité était l'étude de phase III G-US-312-0116. Il s'agissait d'un essai clinique randomisé et en double aveugle dans lequel 220 patients atteints de LLC et en rechute ont été inclus. Les deux groupes de traitement incluant chacun 110 patients étaient : idelalisib 150 mg BID en association avec rituximab [Groupe 1] et rituximab seul (administré avec un placebo) [Groupe 2]. Le traitement par rituximab durait six mois. Dans une première analyse des résultats, la PFS médiane du groupe 2 était de 5.5 mois alors qu'elle n'avait pas encore été atteinte dans le groupe 1. Le taux de réponse global était de 81% avec idelalisib versus 13% sans idelalisib (167). Une seconde étude a permis d'étendre le suivi de certains patients. Les patients du groupe 1 continuaient leur traitement avec 150 mg d'idelalisib BID ou 300 mg BID s'ils avaient progressé. Les patients du groupe 2 bénéficiaient de l'idelalisib à une dose de 150 mg BID s'ils avaient progressé (Figure 12). Dans le groupe 1, la PFS médiane était de 20.3 mois et le taux de réponse global de 85.5% (168).



**Figure 12 – Schéma de l’extension de suivi des patients de l’étude G-US-312-0116**

*D’après Sharman et al. (168). PD : progressive disease, IDELA : idelalisib.*

Une autre étude de phase II, appelée 101-08, a été menée chez le patient âgé. Elle incluait 64 patients âgés de 65 à 90 ans atteints de LLC et jamais traités. Les patients ont reçu une combinaison de rituximab et d’idelalisib. Le taux de réponse global était de 97%, et il était de 100% dans le groupe de patients présentant des facteurs de mauvais pronostic de la LLC, comme la délétion del(17)p ou la mutation TPP53. Le taux de PFS était de 83% à 36 mois (169). D’autres études se sont intéressées à la combinaison de l’idelalisib avec différents anticorps monoclonaux ou chimiothérapies. Dans l’étude multicentrique 101-07, 52 patients atteints de LLC et 79 patients atteints de LNH en rechute recevaient de l’idelalisib en combinaison avec du rituximab (R), de la bendamustine (B) ou les deux (BR), ou avec d’autres anticorps ou chimiothérapies (ofatumumab, fludarabine, chlorambucil, lenalidomide). Pour les patients atteints de LLC, les taux de réponse étaient de 90%, 78% et 87% dans les groupes R, B et BR respectivement (170). Pour les patients atteints de LNH, les taux de réponse étaient de 75%, 88% et 79% respectivement (171). D’autres études se sont également intéressées à la combinaison de l’idelalisib avec l’ofatumumab pour le traitement de la LLC (172,173).

### 3.3.2 Interactions médicamenteuses

Les études *in vitro* ont montré que ni l’idelalisib ni GS-563117 n’étaient inhibiteurs des cytochromes 1A2, 2B6, 2C9, 2C19 et 2D6 ou des transporteurs BCRP, OAT1, OAT3 ou OCT2. En revanche, l’idelalisib est un inhibiteur de la P-gp et les deux molécules sont des inhibiteurs des transporteurs OATP1B1 et OATP1B3. Comme évoqué plus tôt, l’idelalisib est principalement métabolisé par l’AO mais aussi par les CYP3A et UGT1A4. Des études d’interactions médicamenteuses ont été menées chez des

volontaires sains (174). La co-administration de rifampicine, un fort inducteur du CYP3A, avec de l'idelalisib entraîne une réduction de 75% de l'AUC de l'idelalisib et de 89% de l'AUC de GS-563117 qui est principalement métabolisé via les CYP3A. La co-administration d'idelalisib avec des inhibiteurs du CYP3A est déconseillée car elle peut entraîner une diminution de l'efficacité. La co-administration de kétoconazole, un fort inhibiteur du CYP3A, avec l'idelalisib entraîne une augmentation de 26% du Cmax et de 79% de l'AUC de l'idelalisib. Cette augmentation n'est pas considérée comme cliniquement pertinente et aucun ajustement de dose n'est recommandé. Néanmoins il est conseillé de suivre de près les patients concernés, et de surveiller l'apparition d'effets indésirables. L'influence de l'administration d'idelalisib sur d'autres médicaments a également été étudiée. La digoxine est un médicament substrat de la P-gp, transporteur qui est inhibé par l'idelalisib. Aucune différence n'a été observée au niveau des concentrations de digoxine administrée avec ou sans l'idelalisib. La rosuvastatine est substrat de BCRP, OATP1B1 et OATP1B3. L'action inhibitrice d'idelalisib sur ces transporteurs n'a pas non plus d'effet sur l'exposition à ce médicament. En revanche, la co-administration de l'idelalisib avec le midazolam, un substrat du CYP3A, a montré une augmentation de 138% du Cmax et de 437% de l'AUC du midazolam. Cet effet est principalement dû à la capacité de GS-563117 à inhiber le CYP3A. Pour les médicaments substrats du CYP3A, il est donc recommandé de prendre en compte une potentielle augmentation de l'exposition en cas de co-administration avec de l'idelalisib. Enfin, en raison de la solubilité pH-dépendante de l'idelalisib, une étude d'interaction médicamenteuse avec des médicaments antiacides a été menée mais aucun effet cliniquement pertinent n'a été observé (155).

### 3.3.3 Effets indésirables

Les principaux effets indésirables d'intérêt clinique de l'idelalisib sont la diarrhée et la colite, la pneumopathie, l'élévation des taux de transaminases, des infections et des effets hématologiques (neutropénie, anémie, thrombopénie) (175).

La survenue de diarrhée et/ou de colite est un des effets indésirables les plus fréquents observés chez les patients traités par idelalisib. C'est aussi une des causes les plus fréquentes d'arrêt du traitement ou de concession de dose. En effet en cas de diarrhée de grade 3 ou 4, il est recommandé de suspendre le traitement par idelalisib jusqu'à ce que l'évènement soit résolu, puis de reprendre le traitement à une dose diminuée de 100 mg BID. Dans l'étude de phase III qui évaluait la combinaison de l'idelalisib et du rituximab chez 110 patients atteints de LLC, 21% des patients ont eu une diarrhée dont 5% de grade  $\geq 3$ . Dans une autre étude, parmi 146 patients atteints de LNH recevant de l'idelalisib en monothérapie, 47% de diarrhées ont été observées dont 14% de grade  $\geq 3$  (176). Des stéroïdes comme

le budésone, la dexaméthasone ou la prednisone peuvent être administrés au patient pour traiter la diarrhée. En cas de diarrhée chronique, il faut envisager l'arrêt définitif du traitement par idelalisib.

L'élévation de l'alanine aminotransférase (ALAT) et de l'aspartate aminotransférase (ASAT) est également un effet indésirable fréquent de l'idelalisib. Elle a été observée chez 30 à 50% des patients, avec 14 à 16% de grades 3-4 (177). L'élévation des transaminases traduit une atteinte hépatique qui semble être due à une réponse immunitaire induite par l'inhibition de la PI3Kδ au niveau des cellules T régulatrices. Cet effet a également été observé avec le duvelisib, un autre inhibiteur de la PI3Kδ (178). Comme cet effet indésirable est initialement asymptomatique, il est important que les taux d'ASAT et d'ALAT soient surveillés tout au long du traitement. Cet effet est réversible puisque ces taux reviennent à la normale après l'arrêt de la prise d'idelalisib. De même que pour la diarrhée, en cas de grade 3 ou 4 (élévation de l'ASAT et/ou ALAT  $\geq 5$  fois la limite supérieure de la norme), l'idelalisib est temporairement stoppé puis repris à la dose de 100 mg BID. Néanmoins chez certains patients les taux ré-augmentent malgré une concession de dose (176). Il est également recommandé de tester les patients pour les virus des hépatites B et C avant d'initier le traitement par idelalisib. Une prophylaxie pour anticiper la réactivation du virus de l'hépatite B peut être envisagée. L'idelalisib ne doit pas être utilisé en concomitance avec d'autres médicaments hépatotoxiques (177).

La pneumonie (inflammation des poumons) a été observée chez 6 à 22% des patients. Les patients fumeurs, présentant une atteinte chronique au niveau des poumons ou ayant subi des traitements par radiations sont les plus à risque. Il est recommandé de surveiller l'apparition de signes cliniques tels que la toux, la dyspnée, l'hypoxie, l'apparition d'infiltrats pulmonaires interstitiels sur un examen radiologique ou encore une diminution de plus de 5% dans la saturation de l'oxygène (175). En cas de pneumonie, une recherche de l'origine infectieuse doit être réalisée avec notamment la recherche de *Pneumocystis jirovecii*. Plus généralement, l'un des effets indésirables les plus préoccupants de l'idelalisib est l'apparition d'infections graves telles que la pneumonie à *Pneumocystis jirovecii* (PPJ) ou l'infection par le cytomégalovirus (CMV). Des recommandations supplémentaires ont été publiées par les laboratoires Gilead en 2016 pour réduire le risque de telles infections. Tous les patients traités par idelalisib doivent recevoir une prophylaxie contre la PPJ pendant leur thérapie et elle doit être maintenue pendant deux à six mois après l'arrêt d'idelalisib. L'infection au CMV doit également être surveillée régulièrement au cours du traitement. Les patients présentant une virémie à CMV mais n'ayant aucun symptôme clinique doivent faire l'objet d'une surveillance renforcée. En cas d'apparition de signes cliniques de l'infection, l'interruption du traitement par idelalisib doit être envisagée.

Enfin on retrouve aussi des effets indésirables hématologiques. Dans les deux principales études de phase II et III (166,167), les taux de neutropénie, thrombopénie et anémie étaient de 27%, 6% et 2% (phase II) et de 34%, 10% et 5% (phase III) respectivement (175).

#### 3.3.4 *Interruption du traitement*

Les essais cliniques ont montré que le nombre de patients répondant au traitement par idelalisib était élevé. Dans l'essai clinique 101-09 chez des patients atteints de LNH, 57% des patients ont été qualifiés de répondeurs et 90% ont montré une réduction de la taille de leurs ganglions. La médiane de la PFS était de 11 mois (166). De même, dans l'étude clinique G-US-312-0116 chez des patients atteints de LLC, la PFS médiane était de 20.3 mois et le taux de réponse global de 85.5% (168). Des études ont également été menées en vie réelle. Bange et al. (179) ont analysé 61 patients recevant de l'idelalisib pour le traitement de leur LLC. Le taux de réponse global était de 85% et la PFS médiane de 12 mois. Dans une autre étude sur 35 patients recevant de l'idelalisib pour le traitement de leur LLC, le taux de réponse global était de 76% (113). Une des principales causes d'arrêt de l'idelalisib reste la toxicité, avec une majorité de cas d'infections et plus particulièrement de pneumonies (113,179). Dans une étude américaine, Bird et al. ont analysé les données issues de patients bénéficiaires de l'assurance maladie (180). Au total, sur 305 patients traités en monothérapie d'idelalisib pour un LF, 40% ont été sujets à des infections sérieuses et 15% ont été victimes d'infections fatales. Chez 394 patients traités par l'association d'idelalisib et de rituximab pour leur LLC, ces chiffres étaient de 48% et 13% respectivement. Néanmoins, les auteurs ont noté que la pratique de la prophylaxie recommandée par les laboratoires Gilead n'était pas systématiquement respectée : seulement 25% des patients LF et 37% des patients LLC l'avaient reçue. Ils ont tout de même noté une augmentation de la pratique puisqu'avant les nouvelles recommandations, seulement 8% des patients LF et 12% des patients LLC l'avaient reçue. Ils ont également noté une baisse du recours à l'idelalisib par les praticiens suite à ces recommandations. La seconde cause importante d'arrêt du traitement par idelalisib est la progression de la maladie (113). Dans ce cas, il est possible de se tourner vers d'autres traitements, notamment d'autres inhibiteurs comme le venetoclax (181).

### 3.4 Dosage de l'idelalisib

Plusieurs publications présentent des méthodes de quantification des concentrations d'idelalisib. Comme pour l'ibrutinib, c'est la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse qui est utilisée. Le principe général de ces techniques est évoqué dans la section 2.5. Parmi les publications disponibles dans la littérature, Veeraraghavan et al. ont été les premiers à présenter une méthode de

quantification des concentrations d'idelalisib par HPLC-MS/MS (182). Leur méthode a été développée pour quantifier simultanément les concentrations plasmatiques d'idelalisib, de fludarabine et de lenalidomide chez le rat. Ils ont utilisé des échantillons plasmatiques et une technique d'extraction liquide-liquide. Le spectromètre de masse était un triple quadripôle avec une utilisation en mode SRM. La source d'ionisation était du type ESI. Pour l'idelalisib, la gamme de quantification s'étendait de 1 à 577 ng/mL. Une autre étude présente une méthode de quantification dans le plasma du chien par UHPLC-MS/MS (183). Les auteurs présentent le dosage de l'idelalisib et de son principal métabolite, GS-563117. Les conditions d'expérimentation étaient similaires à celles de Veeraraghavan et al. : source d'ionisation ESI en mode positif, mode SRM, extraction liquide-liquide. Les gammes de quantification allaient de 0.1 à 600 ng/mL et à 300 ng/mL pour l'idelalisib et son métabolite respectivement. Enfin Huynh et al. (184) proposent une quantification des concentrations d'idelalisib dans le plasma humain par HPLC-MS/MS. Ils utilisent une source de type ESI en mode négatif et le mode SRM. L'extraction était cette fois réalisée par précipitation des protéines plasmatiques. La gamme de quantification allait de 10 à 2500 ng/mL.

Pour conclure l'idelalisib fait partie des alternatives de traitement pour des patients atteints de LLC ou de LNH en rechute. Le médicament a démontré des taux de réponse importants. Néanmoins, son profil de toxicité l'a rendu moins attractif au regard d'autres molécules comme l'ibrutinib ou de nouveaux inhibiteurs plus récemment arrivés sur le marché comme le venetoclax.

## 4 Analyse de données par approche de population

### 4.1 Méthodes d'analyse de données pharmacocinétiques

L'analyse de données pharmacocinétiques (PK) repose sur la caractérisation de paramètres PK permettant de décrire la cinétique du médicament. Ces paramètres sont calculés à partir des concentrations de médicament observées chez un individu au cours du temps. Plusieurs approches sont possibles pour l'analyse de ces données.

Une de ces approches est l'analyse non compartimentale individuelle. Cette méthode consiste à analyser chaque patient séparément, et à calculer des paramètres PK individuels grâce à des formules mathématiques en lien direct avec les concentrations observées. On peut notamment citer la méthode des trapèzes qui permet de calculer l'aire sous la courbe des concentrations. Pour pouvoir effectuer une analyse non compartimentale, il est nécessaire de disposer d'un nombre important de prélèvements par individu. Les mêmes calculs sont répétés pour chaque individu et on peut ensuite en déduire des paramètres de population en calculant la moyenne et l'écart-type sur l'ensemble des individus étudiés. Cette méthode d'analyse est appelée approche en deux étapes et est couramment utilisée, par exemple dans les études de bioéquivalence. Néanmoins, comme il n'est pas possible de prendre en compte l'erreur réalisée sur l'estimation des paramètres PK individuels, et la variabilité interindividuelle obtenue est souvent surestimée.

La seconde approche possible pour l'analyse de données pharmacocinétiques est l'analyse compartimentale. Dans ce cas, on s'intéresse à la description des variations de concentration grâce à une approche de modélisation mathématique par un système d'équations différentielles. Selon le système étudié, les données peuvent être décrites par un ou plusieurs compartiments. Un compartiment correspond à un volume fictif dans lequel toutes les molécules de médicament se comportent de la même façon. Chaque compartiment est associé à une équation différentielle décrivant la variation de concentration dans ce compartiment à partir des paramètres PK. L'approche de population, introduite par Sheiner et al. en 1972 (185), repose sur une analyse compartimentale, avec certaines spécificités concernant l'estimation des paramètres PK. Contrairement à l'approche en deux étapes décrite ci-dessus, le principe de l'approche de population est de considérer l'ensemble des individus d'une même population simultanément. Les paramètres PK sont décrits par des distributions statistiques et on considère que chaque individu correspond à une réalisation de ces distributions. Ce type de modèle mathématique est appelé « modèle à effets mixtes ». Cette approche a différents avantages. Puisque toutes les données sont analysées simultanément, elle permet



d'inclure des individus ayant peu d'observations (données éparées). C'est un avantage dans certaines populations où la possibilité d'obtenir un nombre de prélèvements sanguins important est limitée pour des raisons d'éthique ou de faisabilité (e.g. pédiatrie, gériatrie ou patients dans un état sévère). L'approche de population permet également de quantifier la variabilité interindividuelle des paramètres PK et de tester dans quelle mesure des facteurs physiologiques et pathologies, appelés covariables, peuvent expliquer cette variabilité. L'approche de population nécessite néanmoins d'avoir un nombre suffisant d'individus à analyser (de l'ordre de 20 à 30 au minimum) afin de pouvoir obtenir des estimations correctes des paramètres modélisés. Il est à noter qu'il est également possible de mettre en œuvre l'approche de population sans employer les modèles à effets mixtes, qui reposent notamment sur des hypothèses statistiques de normalité, mais en utilisant des modèles non-paramétriques qui permettent de s'affranchir de ces dernières (186).

Au-delà de l'analyse pharmacocinétique, il est également intéressant d'étudier la relation entre la pharmacocinétique et la pharmacodynamie (PD). La pharmacodynamie se définit par l'étude des effets d'un médicament. Il peut s'agir d'effets liés à l'efficacité ou bien à la toxicité de ce médicament. A ce titre, les variables pharmacodynamiques étudiées sont multiples et dépendent de l'action du médicament et la pathologie auxquels on s'intéresse. Il peut s'agir d'une variable continue comme la valeur d'un biomarqueur ou d'une variable catégorielle comme la survenue ou non d'un effet indésirable. Dans certains cas, il existe un lien, direct ou indirect, entre la PK et la PD. L'approche de population peut être utilisée pour décrire ce type de relation. En effet, elle permet de développer des modèles PK-PD complexes permettant de décrire et de quantifier l'impact de la PK sur la réponse au traitement. Dans le domaine de l'oncologie, on peut citer deux exemples très connus. Le modèle de Simeoni permet de modéliser la croissance tumorale et l'effet des concentrations de médicament sur cette croissance (187). Il s'agit dans ce cas d'un critère d'efficacité dans le traitement de tumeurs solides : plus la concentration est élevée, moins la tumeur croît. Un autre exemple célèbre est le modèle de Friberg (188). Il s'intéresse à la toxicité hématologique des anticancéreux. En effet, ce modèle permet de décrire la baisse du compte de neutrophiles qui suit l'administration d'un médicament anticancéreux. Les modèles PK-PD peuvent par exemple être utilisés pour déterminer une dose ou une concentration cible permettant de garantir l'efficacité du traitement tout en évitant l'apparition de toxicités sévères.

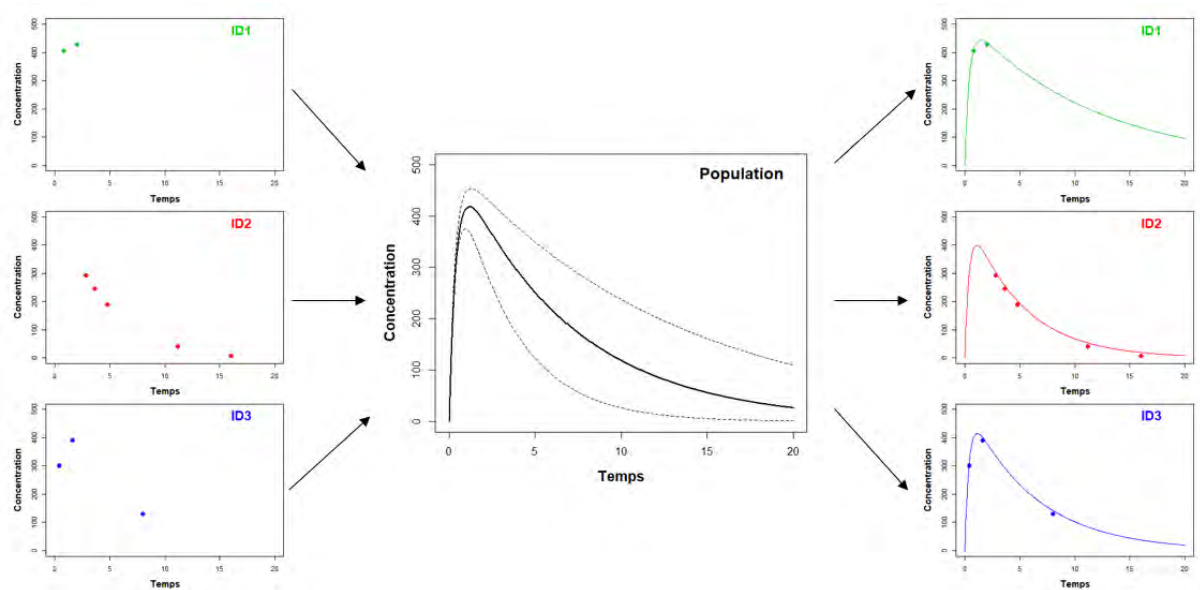
## 4.2 Modèles non linéaires à effets mixtes

L'analyse de données PK et PD par approche de population repose sur un type de modèle mathématique appelé « modèle à effets mixtes ». Plus précisément, dans le cas présent il s'agit de

modèles non linéaires à effets mixtes puisque la relation entre la variable dépendante (e.g. la concentration) et les variables indépendantes ainsi que les paramètres est non linéaire. Ces modèles sont dits à effets mixtes car ils se caractérisent par deux types d'effets :

- Les effets fixes : ce sont les paramètres de population, ils ne varient pas d'un individu à un autre
- Les effets aléatoires : il s'agit des paramètres qui varient entre les individus et qui permettent de décrire les différentes sources de variabilité

Le processus d'estimation consiste à estimer les paramètres de population et leur distribution statistique, puis à en déduire les paramètres individuels issus de ces distributions. Comme le montre la Figure 13, les données de tous les individus sont analysées simultanément afin de déterminer le profil pharmacocinétique de population et la variabilité interindividuelle. Ensuite, les paramètres PK individuels sont déterminés, ce qui permet de reconstruire les profils PK individuels.



**Figure 13 – Schéma de l'analyse de population**

*L'ensemble des individus ( $ID_{1..n}$ ) est analysé de façon simultanée pour déterminer le profil de population et la variabilité interindividuelle. Les paramètres individuels sont ensuite calculés, ce qui permet de déterminer le profil pharmacocinétique de chaque individu. Figure réalisée par F. Gallais, inspirée du contenu des cours du Dr. Emilie Hénin.*

Un modèle non linéaire à effets mixtes peut être décomposé en deux parties : le modèle de structure et le modèle statistique. Pour conduire une analyse de population on utilise un logiciel spécialisé, le

plus employé étant le logiciel NONMEM (ICON Development Solutions, Ellicott City, MD, USA), abréviation pour *Nonlinear Mixed Effect Models*.

#### 4.2.1 Expression générale du modèle

On se place dans le cas d'une population composée de  $N$  individus  $i$  ayant  $j$  concentrations observées. D'un point de vue mathématique, on peut décrire le modèle de la façon suivante :

$$C_{ij} = f(x_{ij}, z_i, \theta, \eta_i) + g(x_{ij}, z_i, \theta, \eta_i) \cdot \varepsilon_{ij}$$

- La fonction  $f$  correspond au modèle de structure et la fonction  $g$  représente correspond au modèle d'erreur, elles sont toutes deux non linéaires.
- $C_{ij}$  correspond à la concentration de l'individu  $i$  au temps  $j$
- $x_{ij}$  est l'ensemble des variables indépendantes du modèle (temps, dose, etc.)
- $z_i$  correspond aux valeurs des covariables de l'individu  $i$
- $\theta$  est le vecteur des paramètres de population correspondant aux effets fixes du modèle
- $\eta_i$  correspond à l'expression de la variabilité interindividuelle des différents paramètres. Le vecteur des  $\eta_i$  suit une loi multinormale centrée sur 0 et de matrice de variance-covariance  $\Omega$ .
- $\varepsilon_{ij}$  correspond à la variabilité résiduelle associée à l'observation  $j$  de l'individu  $i$ .  $\varepsilon_{ij}$  suit une loi normale centrée sur 0 et de variance  $\sigma^2$ . La variabilité résiduelle décrit la différence entre la concentration observée et la concentration prédite, elle traduit la variabilité aléatoire non expliquée par le modèle.

#### 4.2.2 Modèle de structure

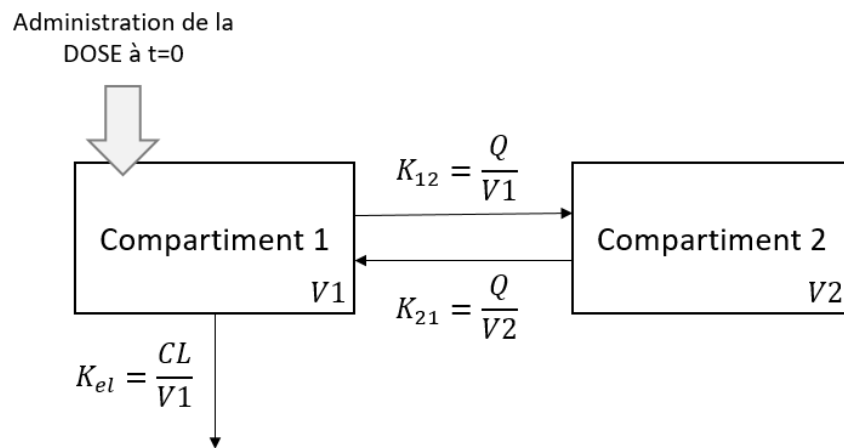
Le modèle de structure correspond aux équations mathématiques qui permettent de décrire le processus biologique que l'on cherche à modéliser. Dans le cas d'un modèle PK classique, il s'agit de la relation entre la concentration plasmatique du médicament et le temps, la dose et les paramètres PK. La structure est décrite par un ensemble de compartiments interconnectés, ainsi que par les transferts entre ces compartiments. Un compartiment est défini par un volume fictif au sein duquel la concentration en médicament est homogène et dans lequel on considère qu'il existe un équilibre instantané. Chaque compartiment est représenté par une équation différentielle, décrivant le bilan des entrées et des sorties en médicament pour chaque intervalle de temps :

$$\frac{dA_k(t)}{dt} = \text{Somme des entrées dans } k - \text{Somme des sorties dans } k$$

On obtient  $A_k(t)$ , la quantité de médicament présente dans le compartiment  $k$  à l'instant  $t$ , par intégration de cette équation. La concentration est ensuite obtenue en divisant la quantité par le volume du compartiment :

$$C_k(t) = \frac{A_k(t)}{V_k}$$

On peut représenter le modèle de façon schématique grâce à un ensemble de boîtes (compartiments) et de flèches (transferts). La Figure 14 montre un exemple d'un modèle à deux compartiments pour une administration intraveineuse bolus.



**Figure 14 – Schéma d'un modèle à deux compartiments pour une administration intraveineuse**  
*La dose est administrée à  $t=0$  dans le compartiment central (1). Le médicament se distribue dans le compartiment 2 et est éliminé à partir du compartiment 1.  $CL$  : clairance d'élimination,  $Q$  : clairance inter-compartmentale,  $V1$  et  $V2$  : volumes des compartiments 1 et 2,  $K_{el}$  : constante d'élimination,  $K_{12}$  et  $K_{21}$  : constantes de transferts entre les deux compartiments. Figure réalisée par F. Gallais.*

Le système d'équations différentielles associé à ce modèle est le suivant :

$$\frac{dA_1(t)}{dt} = K_{21} * A_2(t) - K_{12} * A_1(t) - K_{el} * A_1(t)$$

$$\frac{dA_2(t)}{dt} = K_{12} * A_1(t) - K_{21} * A_2(t)$$

Avec  $K_{12}$  et  $K_{21}$  les constantes de transferts entre le compartiment 1 et le compartiment 2 et  $K_{el}$  la constante d'élimination du compartiment 1. Les conditions initiales du système sont  $A_1(0) = DOSE$  et  $A_2(0) = 0$ . Pour pouvoir interpréter biologiquement les valeurs des paramètres du modèle, on peut décrire le système de façon équivalente en utilisant les termes de clairances et de volumes (189):

$$\frac{dA_1(t)}{dt} = \frac{Q}{V_2} * A_2(t) - \frac{Q}{V_1} * A_1(t) - \frac{CL}{V_1} * A_1(t)$$

$$\frac{dA_2(t)}{dt} = \frac{Q}{V_1} * A_1(t) - \frac{Q}{V_2} * A_2(t)$$

Où  $CL$  est la clairance d'élimination et  $Q$  est la clairance inter-compartimentale, toutes deux exprimées en unité de volume par unité de temps, et où  $V_1$  et  $V_2$  sont les volumes des compartiments 1 et 2, respectivement.

Dans le cas le plus classique, la cinétique est linéaire, c'est-à-dire que la vitesse de transfert est proportionnelle à la quantité de médicament présente dans le compartiment. On parle alors de processus d'ordre 1, il correspond à la relation suivante :

$$\frac{dA}{dt} = k * A$$

Deux autres cas sont fréquemment rencontrés :

- Processus d'ordre 0 (vitesse de transfert constante) :  $\frac{dA}{dt} = k$
- Processus non linéaire de type Michaelis-Menten :  $\frac{dA}{dt} = \frac{V_m}{K_m + A} \cdot A$

Le choix de la relation dépend des connaissances sur la cinétique du médicament. Les différentes possibilités peuvent être testées et comparées en termes d'ajustement du modèle aux données observées.

#### 4.2.3 *Modèle statistique*

##### **Variabilité interindividuelle**

Dans un modèle non-linéaire à effets mixtes, un paramètre PK individuel  $\theta_i$  est obtenu à partir du paramètre moyen dans la population  $\theta_{pop}$  (appelé valeur typique) et d'un écart  $\eta_i$  :

$$\theta_i = \theta_{pop} + \eta_i$$

Où  $\eta_i$  est une variable aléatoire suivant une loi normale centrée sur 0 et de variance  $\omega^2$ . La valeur  $\omega$  correspond donc à l'écart type du paramètre pharmacocinétique. On transforme généralement cette valeur en coefficient de variation (CV) :

$$CV(\%) = \sqrt{\omega^2} * 100$$

On peut estimer la variabilité interindividuelle sur un ou plusieurs paramètres  $P$  du modèle. Dans ce cas, l'ensemble des valeurs  $\eta_{P,i}$  suivent une loi multinormale centrée sur 0 et matrice de variance-covariance  $\Omega$  (190).

En pharmacocinétique, les paramètres estimés sont tous positifs. C'est pourquoi on préfère se placer sur une échelle log-normale grâce à la transformation suivante :

$$\theta_i = \theta_{pop} \cdot e^{\eta_i}$$

Cette transformation assure une valeur de  $\theta_i$  positive quelle que soit la valeur de  $\eta_i$ , contrairement au modèle additif cité ci-dessus. Sur cette échelle, le coefficient de variation est calculé par :

$$CV(\%) = \sqrt{e^{\omega^2} - 1} * 100$$

Pour de faibles valeurs de  $\omega^2$ , la valeur  $e^{\omega^2} - 1$  est proche de  $\omega^2$  et par conséquent cette seconde équation est une approximation de la première (191).

### **Variabilité inter-occasion**

Outre la variabilité interindividuelle, il existe une autre source de variabilité pouvant affecter la valeur des paramètres pharmacocinétiques. En opposition à la variabilité interindividuelle qui traduit les différences entre les individus, il s'agit d'une variabilité intra-individuelle qui est observée chez un même individu, à différentes occasions, d'où le nom de variabilité inter-occasion. En effet, l'état d'un individu évolue au cours du temps et de nombreux facteurs peuvent varier entre différentes occasions de traitement. Par exemple, il peut y avoir une dégradation de la fonction rénale ou un changement de poids. Pour un médicament administré par voie orale, la pharmacocinétique peut changer si celui-ci est pris à jeun ou durant le repas. Les sources de variabilités sont multiples. Lorsque l'on a recueilli des données à différentes occasions de traitement, il est donc possible de modéliser ce niveau supplémentaire de variabilité. Dans ce cas, le paramètre pharmacocinétique individuel devient :

$$\theta_i = \theta_{pop} \cdot e^{\eta_i + \eta_{1,i} * OCC1 + \eta_{2,i} * OCC2}$$

Où  $OCC1$  (respectivement  $OCC2$ ) est égal à 1 s'il s'agit de l'occasion 1 (respectivement 2), et à 0 sinon. Le paramètre  $\eta_i$  correspond toujours à la variabilité interindividuelle à laquelle s'ajoute l'écart  $\eta_{1,i}$  à l'occasion 1 ou  $\eta_{2,i}$  à l'occasion 2, permettant de décrire les différences observées entre les occasions.  $\eta_{1,i}$  et  $\eta_{2,i}$  suivent la même loi normale centrée sur 0 et de variance  $\omega_{OCC}^2$ .

### **Variabilité résiduelle**

La variabilité résiduelle ( $\varepsilon$ ) appelée aussi erreur résiduelle correspond à la différence entre les concentrations observées ( $C_{obs}$ ) et les concentrations prédites ( $C_{pred}$ ). Pour l'observation  $j$  de l'individu  $i$ , elle s'écrit :

$$C_{obs_{ij}} = C_{pred_{ij}} + \varepsilon_{ij}$$

Où  $\varepsilon_{ij}$  suit une loi normale centrée sur 0 et de variance  $\sigma^2$ . La variabilité résiduelle traduit l'ensemble des sources de variabilité n'ayant pas pu être expliquées par le modèle. Cela comprend la variabilité analytique et les éventuelles erreurs de dosage, mais aussi les potentielles erreurs contenues dans le renseignement des données sur les doses ou les temps des administrations et des prélèvements sanguins. Elle traduit également les inadéquations entre le modèle de structure et les données observées. Si le modèle inclut différentes variables dépendantes (par exemple la concentration de la molécule parent et la concentration de son métabolite), on estime une erreur résiduelle pour chacune.

Plusieurs modèles peuvent être utilisés pour décrire l'erreur résiduelle :

- Le modèle additif :  $C_{obs_{ij}} = C_{pred_{ij}} + \varepsilon_{add,ij}$

Il suppose que l'erreur est la même pour chaque observation, autrement dit que l'erreur a une variance constante (homoscédasticité).

- Le modèle proportionnel :  $C_{obs_{ij}} = C_{pred_{ij}} * (1 + \varepsilon_{prop,ij})$

Il suppose que l'erreur est proportionnelle à la concentration mesurée. Dans ce cas la variance varie (hétéroscédasticité) mais le coefficient de variation reste constant.

- Le modèle mixte :  $C_{obs_{ij}} = C_{pred_{ij}} * (1 + \varepsilon_{prop,ij}) + \varepsilon_{add,ij}$

Il s'agit d'une combinaison des deux modèles précédents. Pour les faibles concentrations il s'approche du modèle additif, tandis que pour les valeurs fortes, il sera plutôt proche du modèle proportionnel.

#### 4.2.4 *Modèle de covariables*

Un des objectifs de l'analyse par approche de population est d'identifier les caractéristiques des patients, appelées covariables, qui influencent les paramètres pharmacocinétiques et sont à l'origine d'une partie de la variabilité interindividuelle. Les facteurs pouvant influencer la pharmacocinétique sont variés. Il peut s'agir de caractéristiques démographiques (e.g. âge, sexe), morphologiques (e.g. poids, IMC), biologiques (e.g. créatininémie, albuminémie, enzymes hépatiques), physiopathologiques (e.g. insuffisance rénale ou hépatique), génétiques (e.g. polymorphisme des CYP), environnementales

(e.g. tabagisme) ou liées à d'autres traitements médicamenteux (e.g. interaction médicamenteuse). Une fois que l'on a identifié les covariables qui influencent la pharmacocinétique, il est possible d'anticiper a priori les risques de surexposition ou de sous-exposition des patients concernés.

Pour identifier les covariables pertinentes pour un médicament, on peut s'appuyer sur les connaissances pharmacologiques, par exemple sur le mécanisme d'élimination du médicament. S'il s'agit d'une élimination hépatique, le polymorphisme des CYP peut avoir un impact important, tandis que s'il s'agit d'une élimination rénale, la créatininémie sera une covariable plus pertinente. De façon plus objective, on peut également faire une exploration graphique des valeurs de  $\eta_i$  en fonction de chaque covariable. Cela permet de faire une première sélection des covariables qui semblent être liées à la variabilité interindividuelle avant de les tester rigoureusement dans le modèle.

Pour pouvoir tester les covariables sélectionnées, il faut les inclure dans les équations du modèle. Plus précisément, la covariable d'intérêt est intégrée dans le calcul du paramètre pharmacocinétique sur lequel elle est soupçonnée d'avoir un effet. Il existe plusieurs relations mathématiques possibles entre le paramètre et la covariable.

### **Covariable continue**

Prenons le cas d'une covariable continue telle que l'âge, qui influencerait la clairance ( $CL$ ). La relation entre la clairance et l'âge peut être implémentée de plusieurs façons. Les principales relations utilisées sont les suivantes :

- Relation linéaire :  $CL_i = (\theta_{pop} + \theta_{age} * AGE_i) * e^{\eta_i}$

Avec  $CL_i$  la clairance de l'individu  $i$ ,  $\theta_{pop}$  la clairance moyenne d'un patient d'âge nul,  $\theta_{age}$  l'effet de l'âge sur la clairance,  $AGE_i$  l'âge de l'individu  $i$  et  $e^{\eta_i}$  la variabilité interindividuelle associée à l'individu  $i$ . Le paramètre  $\theta_{age}$  s'interprète alors de la façon suivante : si l'âge de l'individu augmente d'un an, sa clairance typique augmente de la valeur de  $\theta_{age}$ .

- Relation linéaire centrée sur la médiane :  $CL_i = (\theta_{pop} + \theta_{age} * (AGE_i - AGE_{med})) * e^{\eta_i}$

Dans la relation précédente  $\theta_{pop}$  correspondait à la clairance moyenne d'un patient d'âge nul, ce qui n'a pas de sens biologique. On préfère donc centrer la relation sur la médiane (ou la moyenne) de population ( $AGE_{med}$ ) pour pouvoir l'interpréter. Ainsi  $\theta_{pop}$  devient la clairance moyenne pour un patient âgé de l'âge médian dans la population étudiée. L'interprétation de  $\theta_{age}$  reste inchangée.

- Relation de type puissance :  $CL_i = \theta_{pop} * \left(\frac{AGE_i}{AGE_{med}}\right)^{\theta_{age}} * e^{\eta_i}$



Le paramètre  $\theta_{\hat{age}}$  quantifie toujours l'effet de l'âge sur la clairance, néanmoins son interprétation n'est pas aussi directe que dans le cas de la relation linéaire. Cela se rapporte à une relation linéaire sur l'échelle logarithmique puisque si on réalise la transformation logarithmique de l'équation on obtient :  $\ln(CL_i) = \ln(\theta_{pop}) + \theta_{\hat{age}} * \ln\left(\frac{AGE_i}{AGE_{med}}\right) + \eta_i$ .

Les différents types de relation peuvent être testés au cours du développement du modèle et celle décrivant le mieux les données observées est conservée.

### **Covariable catégorielle**

Dans le cas d'une covariable catégorielle, par exemple le sexe, on peut implémenter la relation de deux façons différentes. Les relations sont strictement équivalentes mais l'interprétation n'est pas la même. On peut choisir de prendre un des niveaux de la covariable comme référence. Dans ce cas la relation s'écrit :

$$CL_i = \theta_{pop} * (\theta_{sx})^{SEX} * e^{\eta_i}$$

Avec par exemple la variable  $SEX$  qui vaut 0 pour un homme et qui vaut 1 pour une femme. Dans ce cas la clairance typique chez les hommes est égale à  $\theta_{pop}$  et  $\theta_{sx}$  représente le facteur par lequel la clairance typique est multipliée chez les femmes, par rapport aux hommes.

L'implémentation alternative est d'estimer deux paramètres distincts, un pour chaque groupe de la covariable :

$$CL_{typ,H} = \theta_{pop1}$$

$$CL_{typ,F} = \theta_{pop2}$$

Où  $CL_{typ,H}$  et  $CL_{typ,F}$  sont les clairances typiques dans le groupe des hommes et celui des femmes, respectivement.

### **Test statistique de l'effet des covariables**

Il existe plusieurs façons de tester l'effet des différentes covariables dans le modèle. Une des approches les plus utilisées la méthode dite « *backward* ». On réalise d'abord une analyse univariée dans laquelle on teste une à une chaque covariable préalablement sélectionnée. Un critère de sélection permet de décider quelles sont les covariables à garder à l'issue de cette première analyse. Habituellement on choisit un seuil de significativité de 0.05. Le test de significativité est basé sur la

différence de fonction objective (cf. section 4.4.1). Toutes les covariables ayant un effet considéré comme statistiquement significatif sont ensuite rassemblées dans un seul modèle. Elles sont alors retirées une à une du modèle et on évalue si ce retrait induit une dégradation significative du modèle (*backward selection*). Toutes les covariables dont le retrait est associé à une dégradation significative du modèle sont gardées dans le modèle final tandis que les autres sont éliminées. Pour cette étape, on utilise un critère de sélection un peu plus strict avec un seuil de significativité à 0.01, par exemple. Outre la significativité statistique, une covariable doit aussi entraîner la diminution de la variabilité interindividuelle du paramètre concerné et doit avoir une pertinence clinique pour être conservée dans le modèle final. Plus le nombre d'individus dans la population analysée est élevé, et plus la valeur d'une covariable varie au sein de la population, plus l'effet de celle-ci sera facile à détecter et à quantifier (192).

## 4.3 Estimation des paramètres du modèle

### 4.3.1 *Méthode d'estimation*

Une fois qu'on a défini le modèle que l'on souhaite appliquer aux données, le but est d'estimer les valeurs des paramètres de population qui conduisent au plus petit écart entre les concentrations observées et les concentrations prédites. Il s'agit de maximiser la vraisemblance qui est la probabilité d'observer les données étudiées avec le modèle et les paramètres utilisés. L'étape d'estimation consiste donc à rechercher, de manière itérative, les valeurs de paramètres qui conduisent à la valeur maximale de la vraisemblance. Dans le cas des modèles non-linéaires à effets mixtes, le calcul de la vraisemblance est particulièrement complexe. Il est possible de calculer sa valeur exacte par intégration numérique ou stochastique, mais cela demande une capacité de calcul importante pouvant se traduire par un temps computationnel très long (193). C'est pourquoi, une des solutions possibles est de faire une approximation linéaire du modèle, ce qui permet de simplifier le calcul de la vraisemblance (193,194). Il existe plusieurs méthodes d'estimation de la vraisemblance faisant appel à différentes approximations du modèle. La première méthode d'approximation adaptée aux modèles non linéaires à effets mixtes a été proposée par Sheiner et al. sous le nom de *First-Order method* (FO) (185,195). Elle consiste en une approximation d'ordre 1 de la fonction  $f$  décrivant le modèle, au voisinage des paramètres moyens de population. Cependant cette approche est limitée et peut conduire à des résultats biaisés, notamment en cas de variabilité importante dans les données (193). Une amélioration de la méthode FO a été proposée avec l'approche *First-Order Conditional Estimation* (FOCE) (196). L'approximation est toujours d'ordre 1 mais autour des estimations individuelles des paramètres pour chaque sujet et à chaque itération. Cette approche demande un temps de calcul plus

important mais permet une nette amélioration de l'estimation de la vraisemblance. La méthode de Laplace est similaire à FOCE mais fait intervenir une approximation d'ordre 2 (197). Ces trois méthodes sont disponibles dans le logiciel NONMEM. La plus utilisée actuellement est FOCE, à laquelle on peut ajouter une option d'interaction entre les effets aléatoires  $\eta_i$  et  $\varepsilon_i$  (*First-Order Conditional Estimation with Interaction*, FOCE-I).

Ces méthodes permettent donc d'obtenir une expression analytique de la vraisemblance. L'étape suivante est de trouver quelles sont les valeurs des paramètres qui maximisent la valeur de la vraisemblance. Pour cela, on utilise un procédé itératif. Il s'agit d'un algorithme qui, à chaque itération, recalcule de nouveaux paramètres et la vraisemblance correspondante, jusqu'à en atteindre le maximum. La fonction objective (OFV) d'un modèle est une mesure qui permet de juger de l'adéquation d'un modèle aux données. Elle est définie de la façon suivante :

$$OFV = -2\log(\text{vraisemblance})$$

#### 4.3.2 Estimation bayésienne des paramètres individuels

Durant la phase de détermination des paramètres du modèle par la méthode FOCE, il y a une étape qui permet l'estimation des paramètres individuels, appelés aussi « *Empirical Bayes Estimates* » (EBEs). Cette estimation dite « post hoc » est effectuée par une approche bayésienne. De façon générale, l'approche bayésienne consiste à utiliser de l'information a priori, combinée avec de nouvelles données pour obtenir une estimation a posteriori des paramètres. Dans le cas de l'estimation des paramètres individuels du modèle pharmacocinétique de population, l'information a priori correspond à la distribution statistique des paramètres de population et les données sont les concentrations propres du patient. A partir de ces informations, le modèle va construire la distribution a posteriori du paramètre individuel et la valeur finale sera donnée par le maximum a posteriori (MAP). Pour un patient donné, cela correspond à minimiser la valeur de l'expression suivante (191,198) :

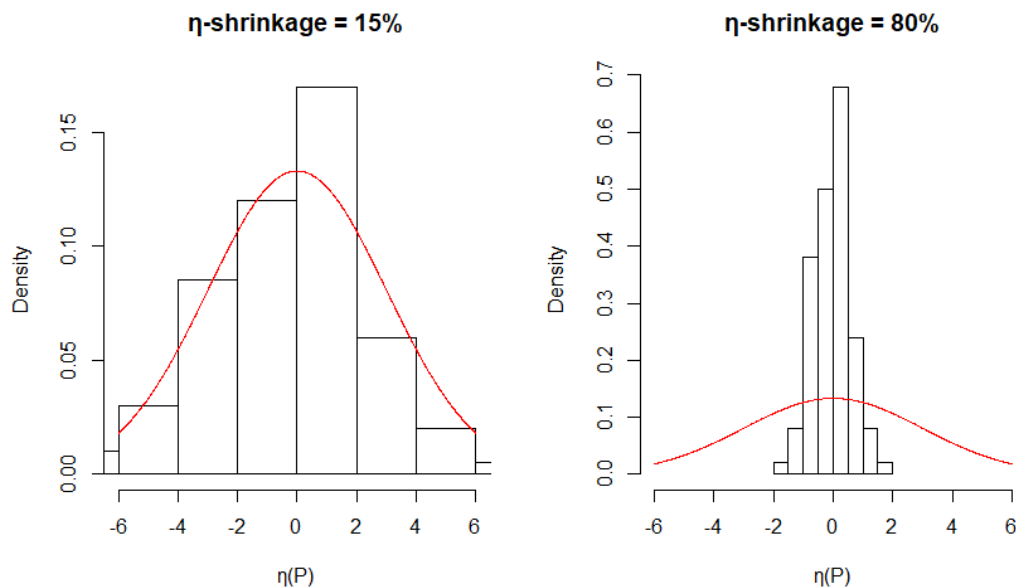
$$\sum_{j=1}^n \frac{(C_{obs,j} - C_{pred,j})^2}{\sigma^2} + \sum_{k=1}^m \frac{(\theta_k - \theta_{k,pop})^2}{\omega_{k,pop}^2}$$

Où  $n$  est le nombre de concentrations observées,  $m$  est le nombre de paramètres,  $C_{obs}$  et  $C_{pred}$  sont les concentrations observées et prédites,  $\theta_k$  et  $\theta_{k,pop}$  sont l'estimation individuelle et l'estimation moyenne dans la population du paramètre  $k$ ,  $\omega_{k,pop}$  est l'écart-type du paramètre  $k$  et  $\sigma$  est l'écart-type des concentrations observées (erreur résiduelle). Cette expression comporte donc deux termes : le premier repose sur les données du patient tandis que le second s'appuie sur l'information a priori des paramètres de population. Si un patient a beaucoup de concentrations observées alors le premier

terme aura plus de poids et l'information a priori aura moins d'influence sur le résultat. En revanche, pour un patient avec peu de données observées (données éparées), l'information a priori a beaucoup plus de poids. Les paramètres individuels prédits ont alors tendance à se rapprocher des paramètres de population (191,198) avec une distribution des  $\eta$  qui se resserre autour de 0 (Figure 15). On parle de phénomène de  $\eta$ -shrinkage (ou régression à la moyenne des  $\eta$ ). Mathématiquement, pour un paramètre  $P$  donné on peut calculer la valeur de ce  $\eta$ -shrinkage par la formule suivante (199) :

$$\eta\text{Shrinkage}_P = 1 - \frac{sd(\eta_P)}{\omega_P}$$

Où  $sd(\eta_P)$  correspond à l'écart type du vecteur  $\eta_P$  contenant les  $\eta_{P,i}$  individuels et  $\omega_P$  est l'écart-type de la variabilité interindividuelle du paramètre  $P$ . La valeur obtenue est considérée comme acceptable si elle est, au plus, de l'ordre de 20-30% (199). Dans le cas contraire, les paramètres pharmacocinétiques individuels obtenus ne sont pas fiables. C'est particulièrement problématique lorsque l'on fait une recherche de covariables sur ce paramètre. En effet comme la distribution des  $\eta_{P,i}$  est faussée, il est possible de conclure à tort à l'existence ou à l'absence d'une relation entre  $\eta_P$  et une covariable.



**Figure 15 – Illustration du phénomène d'  $\eta$ -shrinkage**

*Figure réalisée par F. Gallais, inspirée du contenu des cours du Dr. Emilie Hénin.*

Le même phénomène peut être observé au niveau de l'erreur résiduelle, on parle alors d' $\epsilon$ -shrinkage. Dans ce cas, la différence entre les concentrations observées et les concentrations prédites individuellement se rapproche de 0, donnant l'illusion d'un ajustement parfait. L' $\epsilon$ -shrinkage est défini par (199) :

$$\epsilon Shrinkage = 1 - \frac{C_{obs} - C_{ipred}}{\sigma}$$

Où  $C_{obs}$  correspond aux concentrations observées,  $C_{ipred}$  correspond aux concentrations prédites individuelles et  $\sigma$  est l'écart-type de la variabilité résiduelle. Si l' $\epsilon$ -shrinkage est important (i.e. supérieur à 20-30%), les graphiques diagnostics ne sont plus fiables et il est difficile de juger de l'adéquation du modèle aux données.

## 4.4 Evaluation d'un modèle

### 4.4.1 *Fonction objective*

Comme évoqué précédemment, la fonction objective d'un modèle est définie par :

$$OFV = -2\log(vraisemblance)$$

La valeur absolue de l'OFV pour un modèle donné ne permet pas de juger directement de l'adéquation de ce modèle aux données. En revanche, elle est très utile lorsqu'il s'agit de comparer différents modèles entre eux. Plus la valeur de l'OFV est faible, plus le modèle ajuste bien les données. En particulier, dans le cas de deux modèles emboîtés, la différence de fonction objective (dOFV) entre les deux modèles suit une loi de  $\chi^2$  avec un nombre de degrés de liberté (DDL) égal à la différence du nombre de paramètres entre les deux modèles. On rappelle que deux modèles sont dits emboîtés si l'un peut être considéré comme un cas particulier de l'autre, c'est-à-dire que si l'on fixe certains paramètres du modèle 1 (à 0 par exemple) on retombe sur le modèle 2. C'est très souvent le cas lorsque l'on teste des modèles classiques de pharmacocinétique. Par exemple, un modèle à deux compartiments pour un médicament administré en voie intraveineuse (IV) est décrit par les paramètres  $K_{10}$ ,  $K_{12}$ ,  $K_{21}$  et  $V$ . Si on fixe  $K_{12}$  et  $K_{21}$  à 0, on retombe sur un modèle IV à un compartiment. C'est également le cas lorsque l'on teste l'effet de covariables. En effet, on ajoute un paramètre au modèle de base pour quantifier l'effet de la covariable ( $\theta_{cov}$ ) et si  $\theta_{cov} = 0$ , on revient au modèle de base. Ainsi, il est possible de savoir si l'ajout d'un ou plusieurs paramètres dans le modèle améliore significativement l'ajustement aux données en comparant les valeurs de fonction objective et en se référant à une table de  $\chi^2$ . Cette table permet de connaître la dOFV attendue pour un risque

de première espèce  $\alpha$  défini et un nombre de degrés de liberté donné. Par exemple dans le cas de d'une procédure de test de covariables, il est habituel de choisir un seuil de significativité de 0.05. Avec l'ajout d'un paramètre, il s'agit du cas d'une loi de  $\chi^2$  à 1 DDL. Un effet significatif correspond alors à une différence de fonction objective d'au moins 3.84 points entre les deux modèles. Durant l'étape de *backward selection*, on utilise un critère de sélection un peu plus strict avec habituellement un seuil de significativité à 0.01. Dans ce cas la dOFV attendue est de 6.63 points.

#### 4.4.2 Graphiques diagnostics

L'évaluation de la qualité d'un modèle passe en partie par une appréciation visuelle basée sur certains graphiques appelés « graphiques diagnostics » ou *Goodness-of-fit plots* (GOF) en anglais (200,201). Les principaux GOF sont les suivants :

- Prédictions individuelles ou de population versus observations : les points doivent être répartis autour de la droite identité. Ces graphiques permettent de juger de l'adéquation de la structure du modèle aux données et de détecter d'éventuels biais.
- Résidus en fonction des prédictions ou du temps : les points doivent être répartis de façon symétrique autour de 0, avec 95% des points compris dans l'intervalle  $[-2\sigma, 2\sigma]$ , et ne doivent pas montrer de tendance particulière. Ces graphiques permettent de juger de l'adéquation de la structure du modèle aux données, du modèle d'erreur choisi et de détecter d'éventuels biais.
- Histogramme et diagramme quantile-quantile des effets aléatoires  $\eta_i$  : la distribution des  $\eta_i$  doit vérifier l'hypothèse de normalité.
- Superposition des observations avec les prédictions individuelles ou de population en fonction du temps : les courbes prédites doivent se rapprocher des courbes observées. Ces graphiques permettent d'évaluer l'ajustement au niveau individuel et de situer chaque individu par rapport à un individu typique.

#### 4.4.3 Précision des estimations

La quantification de l'incertitude associée à chacune des estimations des paramètres fait également partie des indicateurs de la qualité d'un modèle. NONMEM intègre le calcul de cette incertitude dans son algorithme et fournit, pour chaque paramètre estimé, une précision appelée *standard error* (SE). On peut traduire cette précision en pourcentage d'erreur (*relative standard error* (RSE)) par la relation suivante :

$$RSE (\%) = \frac{SE}{\theta} * 100$$

Où  $\theta$  est la valeur estimée du paramètre. Il est communément admis que des RSEs inférieures à 30% pour les effets fixes, et inférieures à 50% pour les effets aléatoires, sont des valeurs acceptables. On peut aussi traduire cette précision en donnant un intervalle de confiance à 95% autour du paramètre estimé. Sous l'hypothèse d'une distribution normale de l'incertitude autour du paramètre, l'intervalle peut être calculé de la façon suivante:

$$IC_{95\%} = [ \theta - 1.96 * SE, \theta + 1.96 * SE ]$$

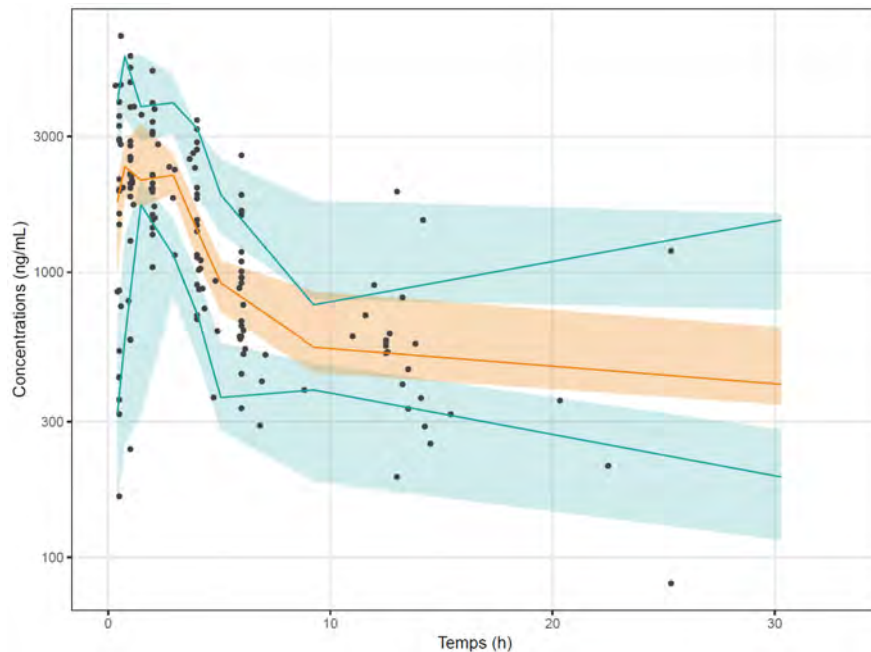
Il existe d'autres méthodes non paramétriques ne faisant pas cette hypothèse de distribution. Une des approches les plus connues est celle du bootstrap, qui a été initialement introduite par Efron et al. en 1979 (202). Cette approche consiste à élaborer  $N$  nouvelles bases de données de la même taille que la base originale grâce à un tirage avec remise des individus présents dans la base originale. Le modèle final est ajusté sur chacune de ces nouvelles bases de données. Les différentes valeurs obtenues pour l'estimation d'un paramètre permettent de construire une distribution empirique de ce paramètre. On peut alors calculer un intervalle de confiance à 95% à partir du 2.5<sup>ème</sup> et 97.5<sup>ème</sup> percentiles de la distribution obtenue. Les principaux défauts de cette approche sont le temps computationnel important qu'elle demande et le risque d'échec de l'étape d'estimation sur certaines bases de données. Plus récemment Dosne et al. ont proposé une autre méthode non paramétrique appelée *Sampling Importance Resampling* (SIR) (203). Elle consiste à affiner la distribution de départ de l'incertitude en évaluant l'ajustement obtenu avec différents vecteurs de paramètres échantillonnés dans cette distribution. Cette méthode ne fait pas d'hypothèse de distribution et ne nécessite pas de ré-estimer les paramètres, résolvant en partie les problèmes liés au bootstrap. Enfin on peut également citer d'autres méthodes comme le profil *log-likelihood* (LLP) (204) ou encore l'approche bayésienne qui permet d'obtenir directement une distribution a posteriori pour chaque paramètre. Une mauvaise précision des paramètres peut suggérer la sur-paramétrisation du modèle.

En ce qui concerne les paramètres individuels estimés (EBEs), il n'existe pas de mesure d'incertitude. Néanmoins, comme évoqué plus haut, la valeur d' $\eta$ -shrinkage peut permettre de juger de la fiabilité des valeurs individuelles obtenues (cf. Section 4.3.2).

#### 4.4.4 Visual Predictive Check

Le Visual Predictive Check (VPC) est reconnu comme l'un des principaux outils d'évaluation de l'adéquation d'un modèle aux données et de sa performance prédictive. Le VPC d'un modèle est obtenu en faisant d'abord  $n$  simulations avec ce modèle (en général,  $n = 1000$ ). On calcule alors le 5<sup>ème</sup>, le 50<sup>ème</sup>, et le 95<sup>ème</sup> percentile des données simulées, ainsi que leur intervalle de confiance à 90% (par exemple). Sur un graphique, on superpose les intervalles de confiance obtenus avec les données

simulées, ainsi que le 5<sup>ème</sup>, le 50<sup>ème</sup>, et le 95<sup>ème</sup> percentile des données observées (Figure 16). Il doit y avoir une concordance entre les données observées et les résultats des simulations. On vérifie ainsi l'adéquation entre les données observées et celles prédites par le modèle.



**Figure 16 – Exemple de VPC pour un médicament administré par voie orale**

*Les surfaces bleues correspondent aux intervalles à 90% du 5<sup>ème</sup> et du 95<sup>ème</sup> percentiles des données simulées tandis que la surface orange est l'intervalle à 90% du 50<sup>ème</sup> percentile des données simulées.*

*Les points sont les données observées et les lignes sont le 5<sup>ème</sup>, le 50<sup>ème</sup> et le 95<sup>ème</sup> percentile des données observées. Figure réalisée par F. Gallais.*

Le procédé menant au VPC s'effectue en réalité en découpant la variable indépendante (e.g. le temps) en plusieurs intervalles appelés *bins*. En 2011, Bergstrand et al. soulignent le risque que le résultat d'un VPC soit trompeur si d'autres variables indépendantes comme la dose ou une covariable diffèrent entre les patients et au cours du temps (205). En particulier dans certains cas, les observations d'une certaine *bin* peuvent être différentes de celles des autres *bins*. C'est le cas par exemple dans une étude d'escalade de dose, ou en cas d'adaptation de dose : la dose est modifiée au cours du temps. Pour pallier à ce problème, Bergstrand et al. proposent le *prediction corrected VPC* (pcVPC). Cela consiste à normaliser la variable dépendante (e.g. la concentration) dans chaque *bin* de la façon suivante :

$$pcY_{ij} = Y_{ij} \cdot \frac{PRED_{bin}}{PRED_{ij}}$$

Où  $Y_{ij}$  est l'observation ou la prédiction de l'individu  $i$  au temps  $j$ ,  $pcY_{ij}$  est l'observation ou la prédiction corrigée,  $PRED_{ij}$  est la prédiction typique de population pour l'individu  $i$  au temps  $j$ , et



$PRED_{bin}$  est la médiane des prédictions typiques de population dans la *bin*. Lorsqu'il existe plusieurs niveaux de doses bien distincts ou différents groupes bien définis au sein d'une covariable, et que chaque sous-groupe contient assez de données observées, il est également possible de faire un VPC classique stratifié sur ces différents niveaux. Cela permet de pouvoir étudier séparément les résultats du VPC et donc d'apprécier la performance du modèle dans les différents sous-groupes.

#### 4.4.5 *Evaluation externe*

Les techniques d'évaluation citées ci-dessus sont dites de « validation interne » du modèle car elles ne s'appuient que sur le modèle et les données qui ont été utilisées pour le construire. On peut également réaliser une évaluation externe du modèle. Pour cela, il faut avoir à disposition un second jeu de données séparé de celui qui a servi à développer le modèle. Il doit être composé d'individus comparables à ceux du jeu de données original (i.e. même population, protocole d'étude similaire) et n'ayant pas été utilisés pour développer le modèle. Si aucune donnée supplémentaire n'est disponible, lorsque l'on a à disposition un jeu de données important, une solution peut être d'utiliser une partie des données pour la construction du modèle et les données restantes pour la validation. Le principe est d'utiliser le modèle pour prédire les données chez ces nouveaux individus, et de comparer les prédictions aux observations, afin de juger de la capacité prédictive du modèle. Pour évaluer les résultats de l'évaluation externe, on utilise les mêmes outils que ceux cités précédemment comme les graphiques diagnostics et le VPC. On peut également calculer l'erreur de prédiction (PE) définie par (206) :

$$PE (\%) = \frac{C_{obs} - C_{pred}}{C_{obs}} * 100$$

Où  $C_{obs}$  et  $C_{pred}$  sont les concentrations observées et prédites respectivement. La médiane des valeurs de PE permet de quantifier le biais de prédiction, tandis que la médiane des valeurs absolues de PE permet de quantifier l'imprécision de prédiction. L'évaluation externe est considérée comme l'une des méthodes les plus rigoureuses pour évaluer un modèle (207). A l'issue de l'évaluation externe, on peut décider de rassembler les deux jeux de données et de refaire une estimation des paramètres afin d'affiner les résultats et de mieux préciser la variabilité (194).

Dans les travaux de cette thèse, la méthodologie d'analyse des données par approche de population a été mise en œuvre pour développer des modèles pharmacocinétiques et pharmacocinétiques-pharmacodynamiques permettant de décrire les données en lien avec l'ibrutinib et l'idelalisib.

### 1 Objectifs

La leucémie lymphoïde chronique est le type de leucémie le plus fréquent retrouvé chez l'adulte dans les pays occidentaux. Cette pathologie se caractérise par une forte hétérogénéité biologique et clinique. Les patients atteints de LLC peuvent présenter des formes plus ou moins graves, nécessitant ou non la mise en place d'un traitement médicamenteux. D'importantes avancées thérapeutiques ont eu lieu durant la dernière décennie et de nouveaux traitements ont vu le jour. Ces nouvelles thérapies ciblées ont révolutionné la prise en charge de la LLC en remplaçant peu à peu les traitements classiques par chimiothérapie. Plusieurs petites molécules inhibitrices ont obtenu leur autorisation de mise sur le marché avec une indication pour le traitement de la LLC. En particulier, l'ibrutinib est le premier inhibiteur de tyrosine kinase ciblant la BTK et le récepteur à cellules B ayant vu le jour. Cette molécule a suscité un fort engouement, du fait du taux de réponse important et d'une bonne tolérance de la part des patients. Un autre inhibiteur du BCR, l'idelalisib, a également été approuvé pour le traitement de la LLC peu de temps après l'ibrutinib. Si ce médicament semblait prometteur dans la lignée des résultats obtenus avec l'ibrutinib, il s'est avéré moins efficace et surtout moins bien toléré avec un risque d'effets indésirables graves élevé. Il est aujourd'hui toujours employé mais de moins en moins prescrit pour le traitement de la LLC.

Pour étudier ces deux médicaments, notamment d'un point de vue pharmacocinétique, l'étude PK-E3i a été mise en place à l'IUCT-Oncopole de Toulouse en 2016. Il s'agit d'une étude monocentrique prospective sur des patients atteints de LLC, LMC ou MW recevant de l'ibrutinib, et des patients atteints de LLC ou de LF recevant de l'idelalisib, en monothérapie ou en association avec le rituximab. L'objectif principal de l'étude PK-E3i était d'évaluer l'association entre la survenue d'au moins un effet indésirable cliniquement significatif au cours de la première année de suivi et la concentration moyenne plasmatique d'équilibre en ibrutinib ou idelalisib déterminée un mois après l'initiation du traitement. L'étude prévoyait d'inclure 93 patients dans la cohorte ibrutinib, et 57 patients dans la cohorte idelalisib. Le chiffre a été atteint pour l'ibrutinib mais suite à la baisse du recours à l'idelalisib, seuls 27 patients ont pu être inclus dans la seconde cohorte. Les patients étaient suivis pendant 24 mois avec huit visites hospitalières prévues à l'inclusion et aux mois 1, 2, 3, 6, 12, 18 et 24. A chaque visite, un examen biologique et un examen clinique étaient réalisés. Des prélèvements sanguins pour l'analyse pharmacocinétique étaient réalisés au mois 1 (cinétique complète, six prélèvements : avant administration et 0.5, 1, 2, 4 et 6h après administration), puis aux mois 2, 3, 6 et 12 (prélèvement

unique environ 24h après la dernière prise), et en cas de survenue d'un effet indésirable (un prélèvement).

Les travaux de cette thèse portent sur l'analyse des résultats de cette étude clinique. Le sujet principal de la thèse était la pharmacocinétique de l'ibrutinib, ainsi que ses effets sur la dynamique des lymphocytes observée chez les patients atteints de LLC. La pharmacocinétique de l'idelalisib a également été étudiée.

Pour les deux molécules, la première partie du travail de thèse a consisté à réaliser le dosage des échantillons plasmatiques récoltés durant l'étude, afin d'obtenir les concentrations des molécules d'intérêt aux différents temps d'observation. Les dosages ont permis de quantifier les concentrations d'ibrutinib et de son principal métabolite actif, le dihydrodiol-ibrutinib, ainsi que les concentrations d'idelalisib.

Les données ont ensuite été analysées par une approche de population reposant sur des modèles non-linéaires à effets mixtes. Dans une première partie, nous avons développé un modèle pharmacocinétique de population pour l'ibrutinib et son métabolite. Le but de ce modèle était de décrire les concentrations des deux molécules et d'identifier d'éventuelles covariables influençant leur pharmacocinétique. Dans une deuxième partie, nous avons développé un modèle pharmacocinétique-pharmacodynamique pour décrire la relation entre la pharmacocinétique de l'ibrutinib et la dynamique des lymphocytes circulants sous ibrutinib dans le contexte de la LLC. Pour cela, nous nous sommes servis du modèle pharmacocinétique préalablement développé. Le but de ce modèle PK-PD était de décrire les différents profils de lymphocytes observés chez les patients atteints de LLC traités par ibrutinib, et de quantifier l'effet de la pharmacocinétique sur ces différentes dynamiques. Dans un second temps, les concentrations d'idelalisib ont également été analysées par une approche de population. L'objectif de cette analyse était de développer un modèle permettant de décrire ces concentrations et d'identifier d'éventuelles covariables pertinentes.

Dans une dernière partie, nous présenterons des travaux additionnels réalisés au cours de cette thèse. Ils portaient également sur l'analyse de données pharmacocinétiques par approche de population en oncohématologie. L'analyse concernait en effet des données de suivi thérapeutique pharmacologique de concentrations de méthotrexate chez des patients atteints de lymphome ou de leucémie lymphoïde aigue traités par des protocoles de méthotrexate à haute dose. L'objectif de ces travaux était d'étudier la relation entre les concentrations de méthotrexate et la survenue de néphrotoxicité, et d'évaluer la pratique consistant à ajuster la dose de méthotrexate en se basant sur la surface corporelle du patient.

## 2 Analyse de la pharmacocinétique de l'ibrutinib et de ses effets sur les lymphocytes circulants dans le contexte de la LLC

### 2.1 Introduction

L'ibrutinib est un inhibiteur de tyrosine kinase approuvé depuis 2014 pour le traitement de diverses hémopathies malignes. Il s'agit du premier inhibiteur irréversible de la BTK, un composant essentiel à la voie de signalisation du BCR qui est impliquée dans le développement et la survie de cellules B (208). L'ibrutinib est un médicament correctement toléré par les patients, et il est associé à un taux de réponse élevé (101). Il fait aujourd'hui partie des premières lignes de traitement pour la LLC.

L'ibrutinib est un médicament administré par voie orale mais qui a la particularité de présenter une biodisponibilité très faible. En moyenne, la molécule est absorbée à hauteur de 3% seulement. Cette faible valeur est essentiellement due à un effet de premier passage hépatique important (87,105). L'ibrutinib est métabolisé par le foie, principalement via le CYP3A4, et également via le CYP3A5 de façon minoritaire. Son principal métabolite est le dihydrodiol ibrutinib. Il est considéré comme quinze fois moins actif que l'ibrutinib vis-à-vis de la BTK. Néanmoins, il présente des concentrations plasmatiques du même ordre que celles de l'ibrutinib et une liaison aux protéines plasmatiques moins importante (91% versus 97%) (209). Les concentrations plasmatiques d'ibrutinib observées chez les patients présentent une forte variabilité interindividuelle. Un premier modèle pharmacocinétique de population de l'ibrutinib a été proposé par Marostica et al. (86). Il a été développé à partir de données d'essais cliniques de phases II et III.

Dans la première partie de ces travaux, nous allons développer un nouveau modèle pharmacocinétique de population sur les données de vie réelle issues de l'étude PK-E3i, incluant les concentrations de l'ibrutinib et celles de son métabolite dihydrodiol. Le but de ce modèle est de décrire les concentrations des deux molécules au cours du temps, de quantifier la variabilité interindividuelle pharmacocinétique et de rechercher des covariables qui pourraient l'expliquer. Grâce à ce modèle, nous effectuerons également une première analyse de la relation entre exposition au médicament et toxicité, et entre exposition et efficacité.

Dans un second temps, nous nous intéresserons aux effets de l'ibrutinib sur les lymphocytes circulants, spécifiquement chez des patients atteints de LLC. L'ibrutinib a plusieurs effets sur les lymphocytes :

inhibition de leur prolifération, stimulation du relargage des lymphocytes des ganglions lymphatiques vers la circulation, inhibition du homing, et stimulation de la mort des lymphocytes. En l'absence de traitement, le taux de lymphocyte des patients atteints de LLC croît de façon logistique ou exponentielle (210). Le traitement de cette pathologie consiste à réduire et à stabiliser ce taux à une valeur normale. Paradoxalement, au début du traitement par ibrutinib, certains patients présentent une augmentation notable du taux de lymphocytes. Cette lymphocytose a néanmoins été reconnue comme un effet particulier de cette classe de médicaments. Elle est asymptomatique et résulte du relargage des lymphocytes stockés dans les ganglions vers la circulation sanguine, et non d'une augmentation de la prolifération de ces derniers (137,142). Herman et al. ont identifié trois profils différents de dynamiques des lymphocytes circulants sous ibrutinib qui se caractérisent par une lymphocytose plus ou moins prononcée (142). Certaines études ont suggéré que les patients ayant une lymphocytose prolongée seraient associés à un meilleur pronostic sur le long terme (116,144). Wodarz et al. ont proposé un premier modèle mathématique permettant de décrire l'évolution des lymphocytes au cours du temps (211). Néanmoins leurs travaux ne prenaient pas en compte l'effet de la pharmacocinétique. Le but de la deuxième partie de ces travaux de thèse est de développer un modèle PK-PD de population mettant en relation la pharmacocinétique de l'ibrutinib avec l'évolution du taux de lymphocytes circulants. Les objectifs de ce modèle sont de décrire les différents profils observés, de quantifier l'impact de la PK ainsi que la variabilité interindividuelle PK-PD et d'identifier d'éventuelles covariables ayant un effet sur cette dynamique. Nous mettrons également en lien les résultats du modèle avec la réponse au traitement.

## 2.2 Dosage des échantillons patients

Au total, nous avons dosé 846 échantillons de 93 patients inclus dans la cohorte ibrutinib de l'étude PK-E3i. Le dosage reposait sur une méthode développée en UHPLC-MS/MS. La méthode a été développée de façon à pouvoir doser simultanément sept inhibiteurs de tyrosine kinase (erlotinib, dasatinib, nilotinib, ibrutinib, imatinib, sorafenib et sunitinib) et pour certains, leur métabolite (N-desethyl erlotinib, dihydrodiol ibrutinib, N-desméthyl imatinib, dorafenib N-oxyde et N-desméthyl sunitinib). Le dosage met en œuvre une technique d'extraction liquide/liquide. La séparation est réalisée par un système d'UHPLC en phase inverse suivie d'une détection par spectrométrie de masse de type triple quadripôle en mode positif utilisant le mode MRM pour la quantification. Cette méthode est utilisée régulièrement au laboratoire de pharmacologie dans le cadre d'analyses de routine hospitalière et a été certifiée par le Comité français d'accréditation (COFRAC).

Les échantillons de sang reçus au laboratoire sont centrifugés (1400 g, température ambiante, 10 minutes) puis le plasma est aliquoté et stocké à une température de -20 °C jusqu'au moment de l'analyse. Le jour de l'analyse, une gamme de calibration est préparée à partir des solutions mères de concentration 1 mg/mL de chacune des molécules incluses dans le dosage. Les molécules ont été réparties en trois groupes de différentes portées de gamme en fonction des concentrations maximales et résiduelles observées en clinique :

- Groupe A : portée de gamme allant de 15.63 à 5000 ng/mL (imatinib, erlotinib, sorafenib, nilotinib)
- Groupe B : portée de gamme allant de 0.98 à 500 ng/mL (N-desméthyl imatinib, sorafenib N oxyde, ibrutinib)
- Groupe C : portée de gamme allant 0.98 à 250 ng/mL (dasatinib, sunitinib, N-desethyl erlotinib, dihydrodiol Ibrutinib, N-desméthyl sunitinib)

Une solution comprenant les étalons internes des différentes molécules est également préparée. L'étalon interne d'une molécule se comporte de la même façon que cette dernière. Il est intégré à l'analyte et sa quantification permet de réaliser une normalisation sur chaque échantillon et ainsi de compenser les éventuelles pertes et différences de traitement d'un échantillon à un autre. Dans le cas de l'ibrutinib et de son métabolite, les étalons internes utilisés sont les molécules deutérées [ $^2H_5$ ]-*Ibrutinib acetate salt* et [ $^2H_5$ ]-*Dihydrodiol-ibrutinib*.

Les différentes étapes de préparation des échantillons de patients sont décrites ci-après. Dans un tube à hémolyse, 250 µL de l'échantillon plasmatique sont additionnés de 6 µL de la solution contenant l'ensemble des étalons internes. A ce mélange sont ajoutés 200 µL d'une solution de soude à 0.2 N, puis 2 mL de solution d'extraction composée de 30% d'hexane et de 70% d'éthyle d'acétate. Les tubes sont ensuite soumis à une agitation rotative pendant cinq minutes, puis centrifugés à 1500 g et à 4 °C pendant dix minutes. A la suite de la centrifugation, la phase organique supérieure est prélevée puis amenée à sec à 37 °C sous flux d'air doux. Enfin, les extraits secs sont repris dans 200 µL d'un mélange de phase mobile A réalisée extemporanément (Formate d'ammonium à 5 mM et pH 3.2) et de méthanol. Les tubes sont ensuite soumis à une agitation par vortex pendant 30 secondes. L'ensemble est enfin filtré à l'aide d'une seringue à insuline et d'un filtre minispiki 0.20 µm dans un vial (Waters) en polypropylène pour analyse.

En vue de la validation des résultats du dosage, des contrôles qualités internes (CQIs) sont utilisés. Il s'agit d'échantillons préalablement préparés à partir de plasma de l'établissement français du sang, de concentrations en molécule d'intérêt connues et validées. Trois CQIs sont préparés pour chaque

molécule. Ils correspondent à une valeur basse, une valeur moyenne et une valeur haute sur la portée de gamme correspondante. Des coefficients de variations associés à chaque groupe de CQI sont calculés et permettent d'assurer la répétabilité et la reproductivité de la méthode. Le jour de l'analyse, les CQIs sont extraits en suivant le même mode opératoire que celui employé pour la gamme de calibration et les échantillons de patients. Des CVs inférieurs à 15% pour les CQIs hauts et moyens et inférieurs à 20% pour les CQIs bas permettent de valider le set d'analyse. Pour l'ibrutinib, les CQIs bas, moyen et haut ont été préalablement validés aux concentrations de 2, 54 et 355 ng/mL, respectivement. Pour le dihydrodiol ibrutinib, les CQIs bas, moyen et haut ont été préalablement validés aux concentrations de 3, 40 et 207 ng/mL, respectivement.

La séparation chromatographique est menée sur une colonne apolaire (Acquity UPLC BEH C18), en phase liquide avec un débit de 0.4 mL/min et à une température de 30 °C. La phase mobile est initialement composée de 95% de phase A (formate d'ammonium à 5 mM et pH 3.2) et 5% de phase B (99.9 % d'acétonitrile et 0.1 % d'acide formique). Le gradient est ensuite le suivant (% phase A - % phase B): 85% - 15%, 63% - 37%, 5% - 95% et retour à 95% - 5%. Cinq µL d'échantillon sont injectés dans la colonne de chromatographie pour un temps d'analyse de 6 min. La température de la source est de 600 °C, celle du gaz de désolvatation de 1100 °C. Les débits de gaz au niveau du cône sont de 150 L/h, et pour les gaz de désolvatation (azote) et de collision (argon) ils sont respectivement de 1100 L/h et 0.4 mL/min. Le voltage du capillaire est de 3.5 kV. La tension de cône de base est de 20 V et l'énergie de collision de base à 3 V. Ces deux paramètres varient ensuite pour chaque molécule et chaque fragment. L'acquisition est réalisée en mode MRM. Les transitions pour l'ibrutinib sont 441 → 84 m/z et 441 → 138 m/z. Les transitions pour le dihydrodiol ibrutinib sont 475 → 84 m/z et 475 → 304 m/z.

## 2.3 Modèle pharmacocinétique de l'ibrutinib et de son métabolite dihydrodiol

### 2.3.1 *Article n°1*

Ces travaux ont fait l'objet d'une publication dans le journal *Clinical Pharmacokinetics* : Gallais et al. *Clin Pharmacokinet.* 2020 Sep;59(9):1171–83.





# Population Pharmacokinetics of Ibrutinib and Its Dihydrodiol Metabolite in Patients with Lymphoid Malignancies

Fanny Gallais<sup>1</sup> · Loïc Ysebaert<sup>1,2</sup> · Fabien Despas<sup>3</sup> · Sandra De Barros<sup>4</sup> · Loïc Dupré<sup>5</sup> · Anne Quillet-Mary<sup>1</sup> · Caroline Protin<sup>2</sup> · Fabienne Thomas<sup>1,6</sup> · Lucie Obéric<sup>2</sup> · Ben Allal<sup>1,6</sup> · Etienne Chatelut<sup>1,6</sup> · Mélanie White-Koning<sup>1</sup>

© Springer Nature Switzerland AG 2020

## Abstract

**Background and Objective** Ibrutinib is used for the treatment of chronic lymphocytic leukemia and other lymphoid malignancies. The aim of this work is to develop a population pharmacokinetic model for ibrutinib and its dihydrodiol metabolite to quantify pharmacokinetic inter- and intra-individual variability, to evaluate the impact of several covariates on ibrutinib pharmacokinetic parameters, and to examine the relationship between exposure and clinical outcome.

**Methods** Patients treated with ibrutinib were included in the study and followed up for 2 years. Pharmacokinetic blood samples were taken from months 1 to 12 after inclusion. Ibrutinib and dihydrodiol-ibrutinib concentrations were assessed using ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. A population pharmacokinetic model was developed using NONMEM version 7.4.

**Results** A total of 89 patients and 1501 plasma concentrations were included in the pharmacokinetic analysis. The best model consisted in two compartments for each molecule. Absorption was described by a sequential zero first-order process and a lag time. Ibrutinib was either metabolised into dihydrodiol-ibrutinib or excreted through other elimination routes. A link between the dosing compartment and the dihydrodiol-ibrutinib central compartment was added to assess for high first-pass hepatic metabolism. Ibrutinib clearance had 67% and 47% inter- and intra-individual variability, respectively, while dihydrodiol-ibrutinib clearance had 51% and 26% inter- and intra-individual variability, respectively. Observed ibrutinib exposure is significantly higher in patients carrying one copy of the cytochrome P450 3A4\*22 variant (1167 ng.h/mL vs 743 ng.h/mL, respectively,  $p = 0.024$ ). However, no covariates with a clinically relevant effect on ibrutinib or dihydrodiol-ibrutinib exposure were identified in the PK model. An external evaluation of the model was performed. Clinical outcome was expressed as the continuation or discontinuation of ibrutinib therapy 1 year after treatment initiation. Patients who had treatment discontinuation because of toxicity had significantly higher ibrutinib area under the curve ( $p = 0.047$ ). No association was found between cessation of therapy due to disease progression and ibrutinib area under the curve in patients with chronic lymphocytic leukemia. For the seven patients with mantle cell lymphoma studied, an association trend was observed between disease progression and low exposure to ibrutinib.

**Conclusions** We present the first population pharmacokinetic model describing ibrutinib and dihydrodiol-ibrutinib concentrations simultaneously. Large inter-individual variability and substantial intra-individual variability were estimated and could not be explained by any covariate. Higher plasma exposure to ibrutinib is associated with cessation of therapy due to the occurrence of adverse events within the first year of treatment. The association between disease progression and ibrutinib exposure in patients with mantle cell lymphoma should be further investigated.

**Trial Registration** ClinicalTrials.gov no. NCT02824159.

**Electronic supplementary material** The online version of this article (<https://doi.org/10.1007/s40262-020-00884-0>) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Loïc Ysebaert  
ysebaert.loic@iuct-oncopole.fr

Extended author information available on the last page of the article

## 1 Introduction

Ibrutinib (Imbruvica®) is a targeted therapy first approved by the US Food and Drug Administration in 2013. It is now used for the treatment of various B-cell malignancies such as chronic lymphocytic leukemia (CLL), mantle cell lymphoma (MCL) and Waldenström's macroglobulinemia

### Key Points

For the first time, a population pharmacokinetic model for ibrutinib and its dihydrodiol metabolite in a real-life population of patients was developed.

The final model was complex, linear and showed large inter- and intra-individual variability.

Higher plasma exposure to ibrutinib was associated with cessation of ibrutinib therapy for toxicity within the first year of treatment.

(WM) [1]. Ibrutinib was developed as a selective and irreversible inhibitor of the Bruton tyrosine kinase (BTK) [2], a non-receptor protein kinase that plays a central role in the B-cell antigen receptor (BCR) pathway. The BCR signaling pathway is crucial for the development and survival of B cells as it is involved in the regulation of their proliferation, differentiation, migration and apoptosis [3]. The BCR has been shown to be involved in various B-cell malignancies [4] and given the essential role of BTK in this pathway, it has been investigated as a target for the treatment of these diseases [5]. Ibrutinib binds covalently to BTK cysteine-481 amino acid, leading to the irreversible inhibition of BTK phosphorylation and enzymatic activity, and therefore alters the BCR signaling cascade. The inhibition of BTK activity by ibrutinib is associated with several anti-leukemic effects on the lymphocytes including inhibition of proliferation, egress from lymph nodes (tumoral niches), inhibition of re-homing to niches, and death in blood and niches [6, 7].

This work focuses on the study of ibrutinib pharmacokinetics. Ibrutinib is an oral drug administered once a day. The standard posology is 420 mg for CLL and WM and 560 mg for MCL. Ibrutinib is predominantly metabolised in the liver by the cytochrome P450 (CYP) 3A family members CYP3A4 and CYP3A5 [8]. Its oral bioavailability is very poor ( $F = 2.9\%$ ; 90% confidence interval 2.1–3.9) owing to high first-pass hepatic metabolism [8, 9]. One of its active metabolites, dihydrodiol-ibrutinib (DHD-ibrutinib), is about 15 times less active than ibrutinib [10] but exhibits lower plasma protein binding (91% binding compared with 97% for ibrutinib) and has concentrations up to twice those of ibrutinib. No specific clinical activity or particular toxicity related to DHD-ibrutinib is known.

The pharmacokinetics of ibrutinib is highly variable in patients. If a relationship between drug exposure and toxicity or efficacy exists, therapeutic drug monitoring (TDM) would be beneficial for patients treated with ibrutinib. A first population pharmacokinetic (popPK) model for ibrutinib was proposed by Marostica et al. [11]. This model was built based on the data collected in three phase I and

phase II clinical studies, but did not include data pertaining to metabolites. The objective of our work is to develop a new popPK model considering ibrutinib and its metabolite simultaneously based on real-life patient population data. The aim of this model is to describe the concentrations of both molecules, to quantify pharmacokinetic (PK) inter- and intra-individual variability, to evaluate the impact of several covariates on ibrutinib PK parameters in a population of patients treated with ibrutinib, to analyse the relationship between exposure to ibrutinib and response to treatment, and to discuss the potential benefit of TDM for ibrutinib.

## 2 Methods

### 2.1 Study Population

The subjects in this analysis include those in the ibrutinib cohort of the PK-E3i study, which was initiated within the hematology department of IUCT-Oncopole hospital (Toulouse, France) in 2016. PK-E3i is an observational PK-pharmacodynamic (PD) study approved by the competent authority (ANSM, under No. 151668A-11) and the ethics committee (under No. CPP16-004a), registered by ClinicalTrials.gov under No. NCT02824159 and carried out by the university hospital of Toulouse. Patients treated by ibrutinib for CLL, MCL or WM were recruited from 2016 to 2018 and followed up for 2 years. All patients gave their written informed consent. Seven hospital visits were planned at months 1, 2, 3, 6, 12, 18 and 24 after inclusion (M1–M24 visits). Pharmacokinetic blood sampling was performed from M1 to M12. Ibrutinib was taken orally once daily at a starting dose of 420 mg (CLL, MW) or 560 mg (MCL). Because of the occurrence of adverse drug reactions, some patients subsequently had their dose reduced.

### 2.2 Data Collection

Rich PK blood sampling was performed at steady state during the M1 visit. A total of six blood samples were taken at  $t = 0$  h (before drug administration) and 0.5, 1, 2, 4 and 6 h after administration. Single PK blood samples were collected at M2–M12 as before drug intake, to assess for trough concentrations. Samples were collected in heparinised lithium tubes of 5 mL. The tubes were centrifuged ( $1400 \times g$ , room temperature, 10 minutes) and plasma was collected and frozen at  $-20^\circ\text{C}$  until analysis. An ultra-performance liquid chromatography in tandem with a mass spectrometer (Waters, St Quentin en Yvelines, France) was used for method development and validation in our laboratory. The method was built for a robust simultaneous quantification of a panel of tyrosine kinase inhibitors including ibrutinib and DHD-ibrutinib. The lower limit of quantification was

0.98 ng/mL for both molecules. One saliva sample was collected for CYP3A4 and CYP3A5 genotyping at inclusion using a commercial kit (GeneFiX™ Saliva-Prep DNA Isolation kit). Based on previous work [12, 13], we focused our interest on CYP3A4\*22 and CYP3A5\*3, which are the main clinically relevant alleles of CYP3A4 and CYP3A5 associated with altered drug metabolism. The presence of CYP3A5\*1/CYP3A5\*3 alleles was determined on genomic DNA with allele-specific real-time polymerase chain reaction using melt curve analysis as previously described [14]. The CYP3A4\*22 allele was genotyped using allelic discrimination with TaqMan assay (c\_59013445\_10) following the manufacturer's instructions.

## 2.3 Population-Pharmacokinetic Modelling

### 2.3.1 General Modelling Strategy

First, a popPK model for ibrutinib only was built. The structural model obtained for ibrutinib was then used to build a more complex model including the metabolite observations. Different methods of taking first-pass hepatic metabolism into account in the model were assessed. Inter-occasion variability was tested on all PK parameters considering one occasion for each hospital visit. Non-zero covariance terms were added in the OMEGA matrix to assess for correlations between ibrutinib and DHD-ibrutinib PK parameters. To ensure model stability, the covariate analysis was performed on the model with a diagonal OMEGA matrix. The final model was externally evaluated on an independent population of patients. Model development was performed with NONMEM version 7.4.1 (ICON Development Solutions, Ellicott City, MD, USA) using first-order conditional estimation with an interaction estimation method. Data management and graphical analyses were performed in R version 3.4.2.

### 2.3.2 Covariate Analysis

Morphological, biological and clinical covariates were selected from PK-E3i patient case report forms. Continuous covariates were added to the model in an allometric manner. Categorical covariates were added to the model in a multiplicative form. To assess for statistical significance of covariate effects, we performed a univariate analysis where all covariates were tested separately on the main PK parameters of interest: ibrutinib and DHD-ibrutinib elimination clearances ( $CL_{\text{ibu}}$ ,  $CL_{\text{DHD}}$ ), first-pass hepatic metabolism constant ( $KA_{\text{DHD}}$ ) and ibrutinib to DHD-ibrutinib metabolism clearance ( $CL_{\text{met}}$ ). Covariates were tested simultaneously on the last two parameters (one  $\theta_{\text{COV}}$  estimation for both parameters) because it was assumed that they described the same physiological process (hepatic metabolism). Covariates

associated with a decrease of objective function value (OFV) greater than 3.84 (Chi-squared test,  $df=1$ ,  $p \leq 0.05$ ) and a decrease of interindividual variability greater than 1% were included in a multivariate model. Then covariates were removed one by one. Covariates associated with an increase of OFV greater than 6.6 (Chi-squared test,  $df=1$ ,  $p=0.01$ ) were kept in the model, others were definitively removed. This process was continued until only statistically significant covariates remained in the model. Multiple testing was accounted for by choosing low significance levels at each step of the covariate analysis (5% and 1% at the univariate and multivariable steps, respectively).

If a covariate ( $c$ ) was missing at a visit ( $v$ ) for patient  $i$ , the missing value was replaced by the value of  $c$  at the previous visit ( $v-1$ ). If no value was available at the previous visit, the missing value was replaced by the population median of  $c$  at visit  $v$ .

### 2.3.3 Model Evaluation

Model selection and evaluation was based on OFV value, goodness-of-fit plots, residual variability estimates, relative standard errors, stability of the estimates and shrinkage values. The model was externally evaluated on a second population that was independent from the model development population but similar to it. The second population consisted of 28 patients receiving treatment at the IUCT-Oncopole Hospital Hematology Department between 2014 and 2016. At the request of the prescribing clinician and to carefully monitor treatment, PK data were routinely collected at each hospital visit. Patient blood samples were collected for one PK exploration at steady state before drug administration and 0.5, 1, 2, 4 and 6 h after administration.

To perform the external evaluation of our model, all parameters were fixed to their estimated value and the NONMEM option MAXEVAL = 0 in the \$ESTIMATION section was used. Median prediction error (%) [bias] and median absolute prediction error (%) [inaccuracy] were calculated. The prediction error (PE) is defined as  $PE = \frac{C_{\text{pred}} - C_{\text{obs}}}{C_{\text{obs}}} \times 100$  where  $C_{\text{pred}}$  is the predicted concentration and  $C_{\text{obs}}$  is the observed concentration [15]. In addition, we calculated the percentage of absolute PEs inferior to 20% and 30% ( $F_{20}$  and  $F_{30}$ , respectively). Visual predictive checks were also used to assess for predictive performance of the model.

## 2.4 Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Evaluation

The PK-E3i study is currently on-going with some of the patients still being monitored. As a preliminary PK-PD analysis, the relationship between pharmacokinetics and

continuation of ibrutinib therapy 1 year after treatment initiation was explored. We looked at the association between ibrutinib area under the curve (AUC) and clearance at the M1 visit and whether the patients had their treatment discontinued because of toxicity or a lack of efficacy or if it was continued 1 year after inclusion.

### 3 Results

A total of 93 patients were included in the study. Four were withdrawn from the study before the M1 visit and therefore unable to perform a plasma drug determination because of refusal to participate ( $n = 1$ ), disease progression ( $n = 2$ ) or death ( $n = 1$ ). Therefore, a total of 89 patients and 1501 concentrations (including ibrutinib and DHD-ibrutinib) were used in the model development. Of these, 27 (30%) were women and 62 (70%) were men, with

a mean age of 69 years (range: 31–84 years). Patients were treated for CLL (87%), MCL (11%) or WM (2%). Detailed information about patients' characteristics can be found in Table 1. Drug concentrations under the lower limit of quantification (4%) were considered equal to the lower limit of quantification/2 = 0.49 ng/mL. Concentrations over time profiles according to the dose received are represented in Fig. 1. Although variability is very important, Fig. 1 shows that plasmatic ibrutinib and DHD-ibrutinib concentrations increase as the dose is increased.

#### 3.1 Step 1: Ibrutinib Population-Pharmacokinetic Model

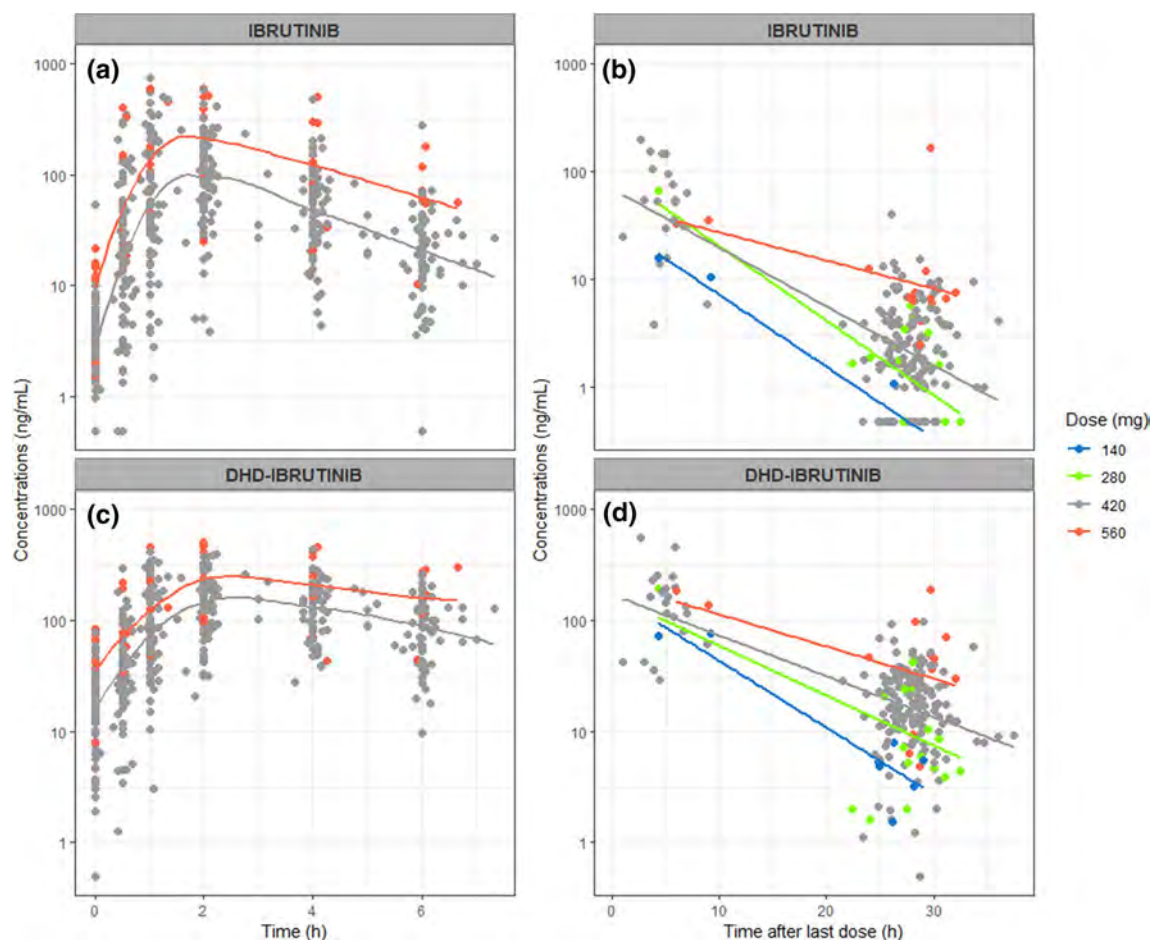
First, a popPK model was built for ibrutinib. A model with two compartments was found to best describe the data. Several absorption models were tested. The best

**Table 1** Patient covariates at baseline ( $n = 89$ )

Characteristics	Mean [range]	Characteristics	Mean [range]
Age (years)	69 [31–84]	CD4 <sup>+</sup> T cells (/mm <sup>3</sup> )	1682 [1034–7571]
Height (cm)	169 [146–189]	CD8 <sup>+</sup> T cells (/mm <sup>3</sup> )	1296 [66–6814]
Weight (kg)	73 [40–113]	CrCL (mL/min)	64 [27–81]
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	25.5 [16.6–36.3]	Total bilirubin (μmol/L)	13 [4–228]
BSA (m <sup>2</sup> )	1.8 [1.3–2.4]	GGT (g/L)	6.4 [1.2–28.0]
Lymphocytes (g/L)	101.6 [0.3–430]	LDH (UI/L)	276 [108–892]
Neutrophils (g/L)	4.3 [2.0–14.0]	ALT (UI/L)	30 [11–109]
Platelets (g/L)	141.2 [7.0–343.0]	AST (UI/L)	26 [9–71]
Hemoglobin (g/dL)	11.0 [3.6–16.0]		
Characteristics	Number (%)	Characteristics	Number (%)
Sex		CYP3A4 genotype	
Female	27 (30)	*1/*1	80 (90)
Male	62 (70)	*1/*22	9 (10)
Disease		CYP3A5 genotype	
CLL	77 (87)	*3/*3	84 (14)
MCL	10 (11)	*1/*3	5 (6)
WM	2 (3)	Smoking	
Prior treatment		Yes	18 (20)
Yes	70 (79)	No	71 (80)
No	19 (21)	Alcohol consumption	
Performance status		Yes	9 (10)
0	22 (25)	No	80 (90)
1	51 (57)		
2	16 (18)		
Coadministration with antacids			
Yes	26 (29)		
No	63 (71)		

ALT alanine aminotransferase, AST aspartate aminotransferase, BMI body mass index, BSA body surface area, CLL chronic lymphocytic leukemia, CrCL creatinine clearance, CYP cytochrome P450, GGT gamma globulins total, LDH lactate dehydrogenase, MCL mantle cell lymphoma, WM Waldenström's macroglobulinemia





**Fig. 1** Observed concentrations of ibrutinib (**a**, **b**) and dihydrodiol-ibrutinib (**c**, **d**) according to dose. Figures (**a**) and (**c**) represent the data obtained with rich sampling (six samples from 0 to 6 hours after administration) at the M1 visit (1 month after inclusion and treatment

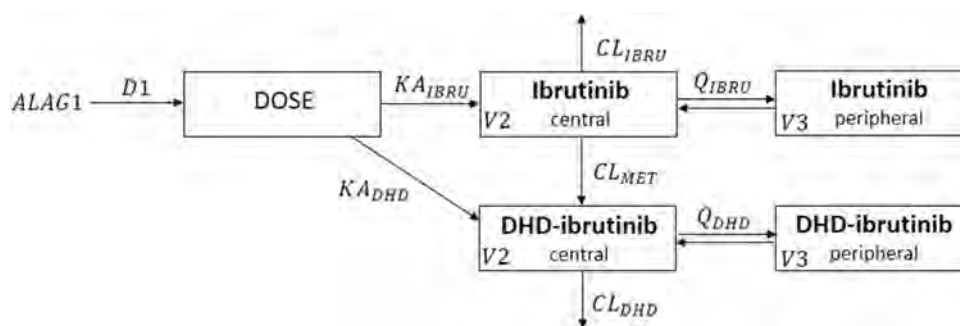
initiation). Figures (**b**) and (**d**) represent concentrations obtained from a single sample taken before drug administration at M2, M3 and M6 visits (2, 3 and 6 months after inclusion, respectively)

absorption model was a sequential zero-first absorption with a lag time. Bioavailability was fixed to the value  $F1 = 3\%$  [10] and inter-individual variability was estimated on  $F1$ . This last step was found to improve the model performances significantly (drop in OFV over 100 points). A schematic of the final popPK model for ibrutinib is available in the Electronic Supplementary Material (ESM).

### 3.2 Step 2: Ibrutinib and Dihydrodiol-Ibrutinib Population-Pharmacokinetic Model

The global structure of the model obtained in step 1 was kept for ibrutinib. As demonstrated in step 1 by the need to add the bioavailability parameter  $F1$  in the model, a crucial question was how to take into account first-pass hepatic metabolism in the model to obtain a good description of the observed data. Dihydrodiol-ibrutinib volumes of distribution were fixed as equal to those of ibrutinib as the metabolised

fraction was unknown and hence the metabolite volume of distribution could not be estimated. Finally, the best model (Fig. 2) consisted of one dosing compartment, two compartments for both ibrutinib and DHD-ibrutinib. Absorption was described by a lag time ( $ALAG1$ ) and a sequential zero first-order process ( $D1$ ,  $KA_{\text{ibru}}$ ). Ibrutinib can be either metabolised into DHD-ibrutinib ( $CL_{\text{met}}$ ) or excreted through other routes of elimination ( $CL_{\text{ibru}}$ ). Dihydrodiol-ibrutinib is then eliminated ( $CL_{\text{DHD}}$ ). A link between the dosing compartment and the DHD-ibrutinib central compartment was added to assess for high first-pass hepatic metabolism ( $KA_{\text{DHD}}$ ). Non-zero covariance terms in the omega matrix were found to improve the model (the detailed OMEGA matrix can be found in the ESM). Proportional residual variability was estimated for ibrutinib ( $\sigma_{\text{ibru}}$ ) and DHD-ibrutinib ( $\sigma_{\text{DHD}}$ ). Inter-occasion variability was estimated for both ibrutinib and DHD-ibrutinib elimination clearances.



**Fig. 2** Final population pharmacokinetic model for ibrutinib and its dihydrodiol (DHD) metabolite. Absorption is delayed with a lag time (ALAG1) and is modelled by a zero first-order sequential process with parameters  $D1$  and  $KA_{IBRU}$  for zero and first-order process, respectively. First-pass hepatic metabolism is modelled by a link between the dosing compartment and metabolite central compartment with parameter  $KA_{DHD}$ . Both molecules have a distribution compartment

ment. Dihydrodiol-ibrutinib volumes of distribution were fixed to the same values as those of ibrutinib:  $V2$  is the central volume of distribution and  $V3$  is the peripheral volume of distribution. Ibrutinib can be either metabolised into DHD-ibrutinib ( $CL_{met}$ ) or excreted through other routes of elimination ( $CL_{IBRU}$ ). Dihydrodiol-ibrutinib is then eliminated ( $CL_{DHD}$ ). All clearance and volume parameters are apparent

### 3.3 Step 3: Covariate Analysis

All tested covariates are summarised in Table 1. A univariate analysis led to the selection of the following covariates:  $CD4 + T$  cells, prior treatment and performance status on  $CL_{IBRU}$ , CYP3A4\*22 genotype on  $CL_{DHD}$ , and body mass index on  $KA_{DHD}$  and  $CL_{met}$ , with  $CD4 + T$ -cell count and body mass index being time-varying covariates (the value for each visit was used in the analysis). These covariates were then included in the multivariate analysis. Finally, none of the tested covariates had a significant statistical impact in the model ( $p = 0.01$ ). Ibrutinib and DHD-ibrutinib AUC were simulated for virtual patients with each covariate varying from its 10th to its 90th percentile (while all other covariates were fixed to their typical value) [16]. Ibrutinib AUC was calculated using model parameters as follows:

$$AUC_{IBRU} = \frac{DOSE \times \left( \frac{KA_{IBRU}}{KA_{DHD} + KA_{IBRU}} \right)}{CL_{met} + CL_{IBRU}},$$

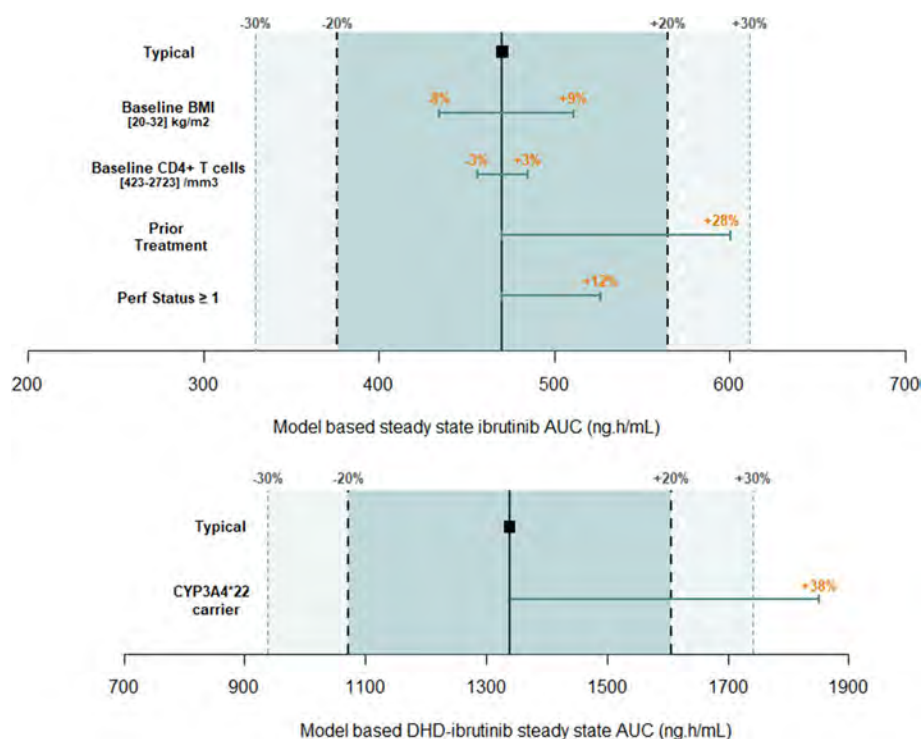
whereas DHD-ibrutinib AUC was calculated using the trapezoidal method with the population concentrations predicted by the model. Results are summarised in Fig. 3. None of the tested covariates led to a change of AUC greater than 30% except for the CYP3A4 genotype on  $CL_{DHD}$ , which led to a 38% increase of DHD-ibrutinib AUC. Regarding this last result, the relationship between observed ibrutinib and DHD-ibrutinib AUC and CYP3A4/5 genotypes was evaluated: patients carrying the CYP3A4\*22 variant associated with lower metabolic activity had mean observed ibrutinib and DHD-ibrutinib AUC 1.6-fold higher (1167 ng.h/mL vs 743 ng.h/mL) and 1.5-fold higher (2597 ng.h/mL vs 1777 ng.h/mL) than in the reference group, respectively.

These associations were statistically significant (Wilcoxon test:  $p = 0.024$  for ibrutinib and  $p = 0.028$  for DHD-ibrutinib). No significant association was found for CYP3A5\*3. Concerning the potential dose–concentration relationship, no systematical decrease or increase of clearance values over time was observed. Percentage of clearance variation compared to occasion 1 was randomly distributed with a median close to 0% for both molecules. Final model parameter estimations are presented in Table 2. Goodness-of-fit plots are shown in Fig. 4.

### 3.4 Step 4: External Evaluation of the Model

The model represented in Fig. 2 was externally evaluated. A total of 28 additional patients and 352 concentrations were included in the analysis. This independent population was similar to the main population as it consisted of 11 (39%) women and 17 (61%) men, with a mean age of 69 years, treated with ibrutinib for CLL (86%) or MCL (14%). Median prediction error and median absolute prediction error were calculated with individual- and population-predicted concentrations for ibrutinib and DHD-ibrutinib (Fig. 5). According to individual model predictions, predictive performances are very satisfactory. Bias is less than 10% for ibrutinib and less than 5% for DHD-ibrutinib. Inaccuracy is less than 20% for ibrutinib and less than 15% for DHD-ibrutinib. Prediction-corrected visual predictive checks are good. For population predictions, bias values remain satisfactory (less than 10%) but predictions are not very accurate (around 50% and 40% imprecision for ibrutinib and DHD-ibrutinib respectively), only 23% of ibrutinib concentrations and 41% of DHD-ibrutinib concentrations are well predicted ( $PE < 30\%$ ).

**Fig. 3** Evaluation of the impact of significant covariates in a univariate analysis on ibrutinib and dihydrodiol (DHD)-ibrutinib area under the curves (AUCs). The solid black vertical line is the AUC for a typical patient. Dotted black lines correspond to variations of AUC of 20% and 30%. Blue horizontal bars represent a change in the AUC for the corresponding covariate varying from its 10th to its 90th percentile. Percentage changes in AUCs are written in orange



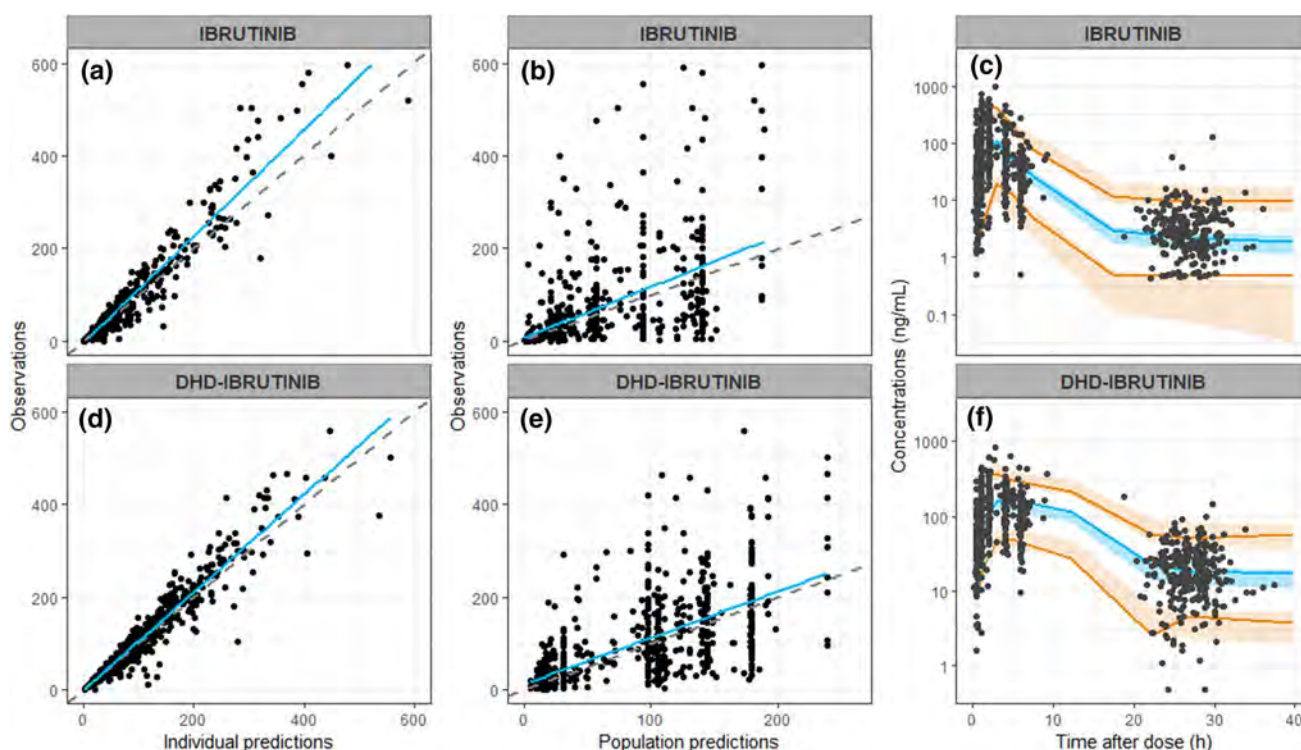
**Table 2** Parameter estimates for the final ibrutinib and dihydrodiol-ibrutinib population pharmacokinetic model

Parameters	Estimation (RSE)	Interindividual variability CV% (RSE) [shrinkage]	Inter-occasion variability CV% (RSE) [shrinkage]
ALAG1(h)	0.238 (16%)	80.6% (16%) [16%]	NE
D1(h)	0.989 (19%)	115.2% (16%) [12%]	NE
KA <sub>ibru</sub> (h <sup>-1</sup> )	1.56 (18%)	NE	NE
KA <sub>DHD</sub> <sup>a</sup> (h <sup>-1</sup> )	1.21 (20%)	64.2% (24%) [4%]	NE
CL <sub>IBRU</sub> <sup>a</sup> (L/h)	242 (11%)	66.5% (24%) [2%]	46.7% (13%) [17%]
V2 <sup>a</sup> (L)	1010 (9%)	81.8% (19%) [1%]	NE
Q <sub>IBRU</sub> (L/h)	171 (16%)	NE	NE
V3 <sup>a</sup> (L)	1480 (9%)	76.9% (20%) [4%]	NE
CL <sub>MET</sub> <sup>a</sup> (L/h)	150 (19%)	64.4% (21%) [12%]	NE
CL <sub>DHD</sub> <sup>a</sup> (L/h)	181 (9%)	50.7% (12%) [0%]	25.7% (8%) [23%]
Q <sub>DHD</sub> (L/h)	50 (13%)	NE	NE
Proportional residual variability CV% (RSE) [shrinkage]			
σ <sub>IBRU</sub>	37% (13%) [24%]		
σ <sub>DHD</sub>	25.7% (8%) [25%]		

Variance-covariance matrix is available in the ESM. Proportional residual variability was 37% for ibrutinib and 25.7% for DHD-ibrutinib. All clearance and volume parameters are apparent

Interindividual variability was estimated for every parameter except  $KA_{ibru}$  and inter-compartmental clearances. Inter-occasion variability was estimated for both elimination clearances. Non-zero covariance terms were estimated between  $D1$  and  $ALAG1$ , and between all parameters  $a$

$ALAG1$  lag time for absorption,  $CL_{ibru}$  and  $CL_{DHD}$  ibrutinib's and DHD-ibrutinib's elimination clearances,  $CL_{met}$  ibrutinib's clearance of metabolism into DHD-ibrutinib,  $CV\%$  percentage coefficient of variation,  $DHD$  dihydrodiol,  $D1$  and  $KA_{ibru}$  zero and first-order absorption parameters,  $KA_{DHD}$  FPHM parameter,  $Q_{ibru}$  and  $Q_{DHD}$  are inter-compartmental clearance for ibrutinib and DHD-ibrutinib,  $RSE$  relative standard error,  $V2$  and  $V3$  are central and peripheral volumes of distribution for both molecules



**Fig. 4** Goodness-of-fit plots of the final population pharmacokinetic model for ibrutinib (a–c) and dihydrodiol (DHD)-ibrutinib (d–f). For observations vs individual predictions (a, d) and observations vs population predictions (b, e), the blue line is linear regression and the gray dotted line is the identity line. For prediction-corrected visual

predictive checks [1000 simulations] (c, f), points are observed data, colored areas are the 5th (orange), 50th (blue) and 95th (orange) percentiles of simulated concentrations, whereas orange and blue lines are the 5th, 50th and 95th percentiles of observed concentrations

### 3.5 Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Relationship

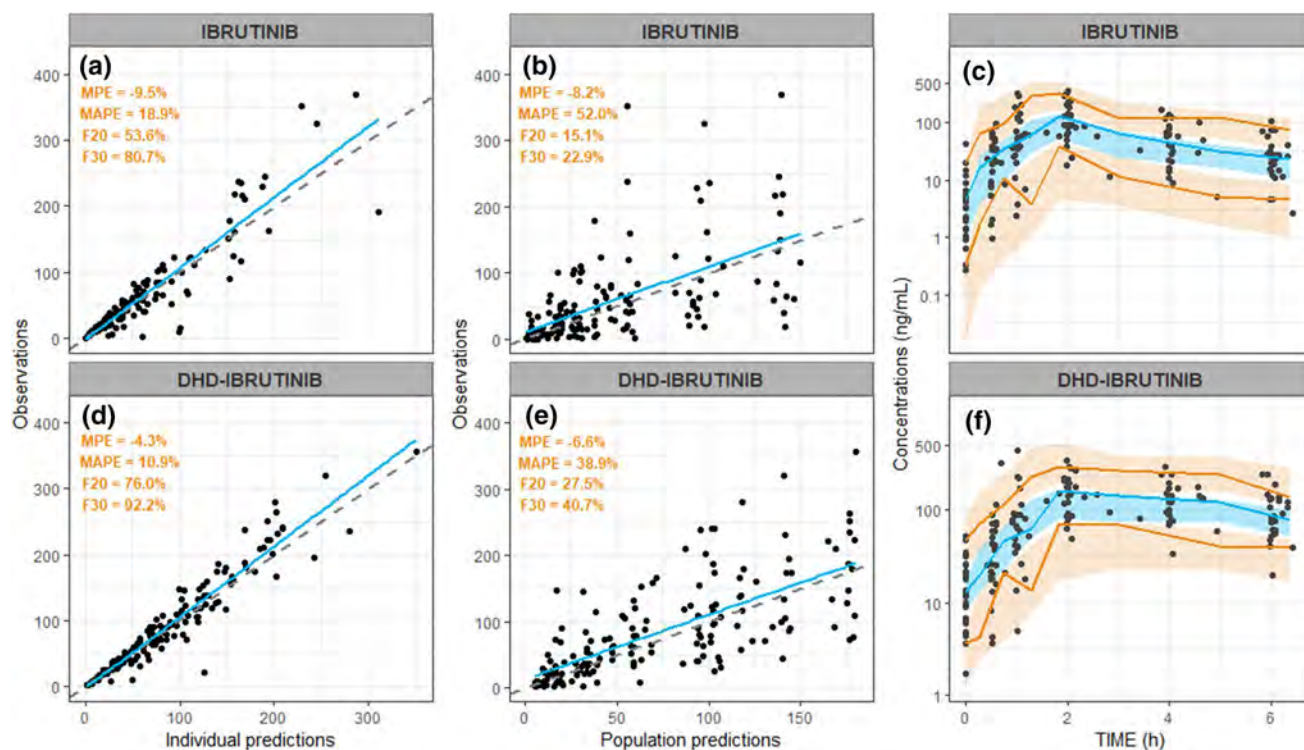
A preliminary analysis of the ibrutinib PK-PD relationship was performed. One year after inclusion, 66 patients were still receiving therapy, eight discontinued their treatment for toxicity, 11 for inefficacy (disease progression) and four for other reasons (refusal to participate in the study, progression of other disease and death from other cause). Patients who discontinued therapy because of the occurrence of an adverse drug reaction had a 1.5-fold higher mean ibrutinib AUC at visit M1 than patients who did not discontinue treatment (Fig. 6) [Wilcoxon test,  $p=0.048$ ]. In terms of efficacy, patients with CLL and MCL were distinguished (the WM population was ignored as it contained only two patients). In the CLL population, 62 patients were still receiving treatment at month 12, whereas six patients discontinued treatment because of disease progression. No difference was observed between the two groups in terms of exposure to ibrutinib at visit M1. In the MCL population, two patients were still receiving treatment at month 12, whereas five patients discontinued treatment because of disease progression. Patients with MCL who discontinued treatment had

lower ibrutinib AUC (0.45-fold lower mean AUC) but this association was not statistically significant (Fig. 7).

## 4 Discussion

The popPK model we developed for ibrutinib is consistent with the model proposed by Marostica et al. [11]. Several methods of modelling the first-pass hepatic effect were investigated. The reproduction of the model developed by Lindauer et al. for sunitinib [17] was not possible as no information was available concerning the ibrutinib fraction metabolised into DHD-ibrutinib. A model similar to that presented by Yu et al. [18] was also tested, with two dosing compartments, one representing ibrutinib and one representing the metabolite, and initialisation with part of the dose. ter Heine et al. proposed a model with a liver compartment and hypothesised rapid equilibrium between the liver and parent central compartment [19]. These models were not selected because of the instability of parameter estimates and bad fit of the data. The model finally selected in our study was similar to that presented by Bertrand et al. [20] and Kerbusch et al. [21]. The simple addition of a link between

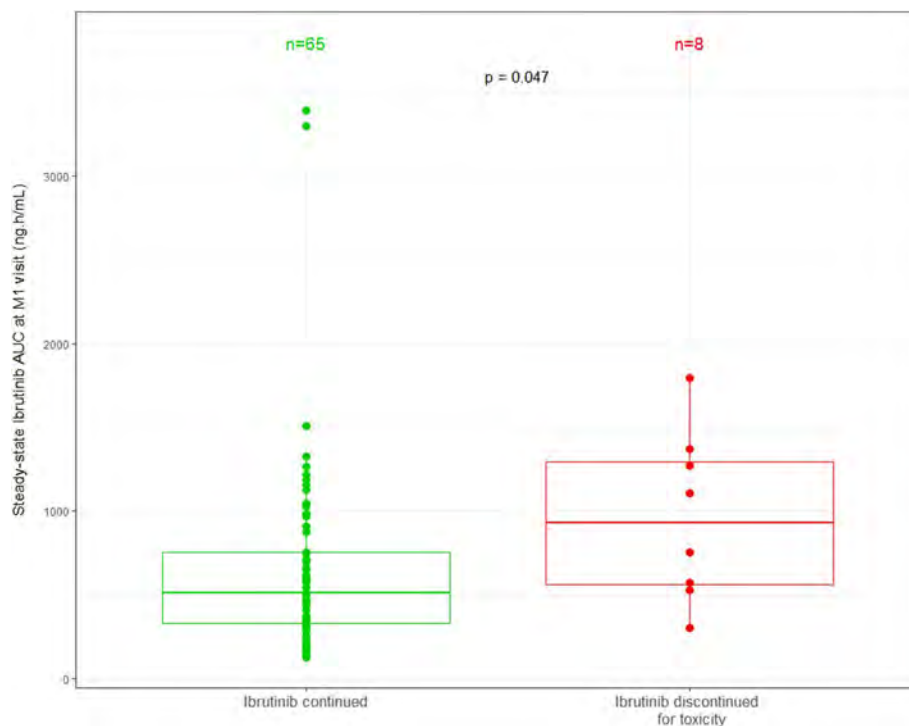




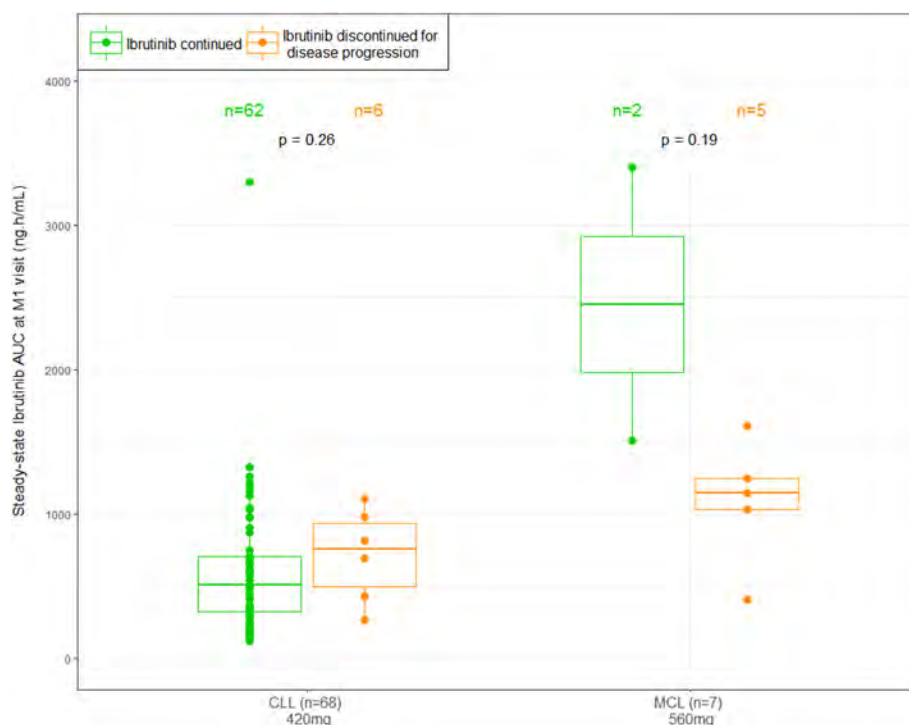
**Fig. 5** External evaluation of the final population pharmacokinetic model for ibrutinib (a–c) and dihydrodiol (DHD)-ibrutinib (d–f). For observations vs individual predictions (a, d) and observations vs population predictions (b, e), the blue line is linear regression and the gray dotted line is the identity line. For prediction-corrected visual

predictive checks [1000 simulations] (c, f), points are observed data, colored areas are the 5th (orange), 50th (blue) and 95th (orange) percentiles of simulated concentrations whereas orange and blue lines are the 5th, 50th and 95th percentiles of observed concentrations

**Fig. 6** Comparison of steady-state area under the curve (AUC) calculated from pharmacokinetic post-hoc parameters at hospital visit M1 between patients who discontinued ibrutinib within the first year of treatment because of the occurrence of an adverse event and patients who were still receiving therapy 1 year after inclusion. A statistically significant association was found: patients who underwent adverse events had higher ibrutinib AUC ( $p=0.048$ )



**Fig. 7** Comparison of steady-state area under the curve (AUC) calculated from pharmacokinetic post-hoc parameters at hospital visit M1 between patients who discontinued ibrutinib within the first year of treatment because of disease progression and patients who were still receiving therapy 1 year after inclusion. Patients were separated according to their disease (chronic lymphocytic leukemia [CLL] or Mantle cell lymphoma [MCL]). No statistically significant association was observed for either of the two groups. A trend of under-exposure in patients who had disease progression was observed for patients with MCL indicating that this association should be further explored



the dosing compartment and the metabolite central compartment was sufficient to describe the first-pass hepatic effect. In their analysis, Marostica et al. showed a significant effect of food on bioavailability (decreased in the fasted condition) and on the absorption parameter  $D1$  (increased in the fasted condition). These results could not be confirmed in our study as this covariate was not available for our population. The recommendation that ibrutinib should be taken 30 minutes before or 2 hours after food intake was explicitly given by the clinicians to the patients but there is no guarantee that they followed it, nor any data to assess it. Marostica et al. also found an effect of the coadministration of antacid drugs on  $D1$  (increased in the presence of antacid comedications). This covariate was tested in our model but no statistically significant effect was found. However, in our study, the coadministration of antacids was only reported as “yes or no” the day of the hospital visit. As the time of antacid administration can vary, we may have missed a significant effect of antacid coadministration on ibrutinib concentrations. Furthermore, none of the tested covariates had a clinically relevant impact as none of them led to a change of AUC greater than 30% (except for the CYP3A4 genotype on CL<sub>DHD</sub>, which led to a 38% increase of DHD-ibrutinib AUC). Intra-individual variability was also quantified in the final model. The estimations were large, around 50% and 30% for ibrutinib and DHD-ibrutinib clearance of elimination, respectively. As mentioned above, this intra-individual variability could partly be explained by food conditions. The final model was externally evaluated (Fig. 5). The results of

the evaluation proved that our structural model is accurate, as both molecule bias and inaccuracy in individual predictions were under 10% and 20%, respectively. Inaccuracy in population predictions (median absolute prediction error) was around 50% for ibrutinib and 40% for DHD-ibrutinib, which implies that covariate identification is still needed to account for the interindividual variability.

Ibrutinib is extensively metabolised in the liver by CYP3A4 and to a lesser extent by CYP3A5. It has been shown that exposure to ibrutinib is lower or higher when administered with CYP3A inducers or inhibitors, respectively [9]. Based on previous work [12], we focused our interest on CYP3A4\*22 and CYP3A5\*3. CYP3A4\*22 is found in 5.3% of the Caucasian population and is associated with a lower metabolic activity than wild-type genotype CYP3A4\*1/\*1. The CYP3A5\*3 variant is carried by 83% of the Caucasian population and is associated with a lower metabolism than the wild-type allele CYP3A5\*1 [12, 13]. We found that carrying the CYP3A5\*3 variant had no effect on ibrutinib PK presence, which is in agreement with its low contribution to ibrutinib metabolism [8] but could also be due to the low number of heterozygous patients (only five patients had the CYP3A5\*1/CYP3A5\*3 genotype). For CYP3A4, nine patients had the CYP3A4\*1/CYP3A4\*22 genotype. Ibrutinib observed AUC was significantly higher in patients carrying one copy of the CYP3A4\*22 allele ( $p=0.024$ ) but CYP3A4\*22 was not a significant covariate for ibrutinib clearance in our model. Higher DHD-ibrutinib observed AUC was also found in patients carrying

CYP3A4\*22 ( $p = 0.027$ ). CYP3A4\*22 was found to be a significant covariate impacting DHD-ibrutinib clearance in a univariate analysis and we showed through model simulations that the presence of CYP3A4\*22 led to a 38% increase in DHD-ibrutinib steady-state AUC. These results suggest that DHD-ibrutinib is also metabolised through CYP3A4. This hypothesis was also mentioned in a previous study [10]. Regarding these results, the association between ibrutinib, DHD-ibrutinib exposure and CYP3A4 genotype status should be further investigated in larger populations to determine whether this information should be taken into account when choosing ibrutinib dosing.

Previous studies showed a decrease of BTK levels over time under ibrutinib treatment [22, 23]. Based on this observation and on the assumption that a stoichiometry law describes ibrutinib efficacy, Chen et al. conducted a pilot study in 11 patients with CLL to test the impact of reducing the ibrutinib daily dose as treatment progresses [24]. In their study, patients received three cycles of treatment from 420 mg/day (cycle 1), to 280 mg/day (cycle 2) and 140 mg/day (cycle 3). The authors observed globally similar plasmatic concentrations of ibrutinib and BTK occupancy during the three cycles, suggesting that reducing the dose of ibrutinib over time would have no impact on a patient's response to treatment. The same conclusion was reported in another study [25]. It is concordant with our results as we observed no trend between the progression group and the responding group, suggesting that the dose of 420 mg is above the required dose and that lowering it would not be associated with modification of the efficacy. Yet, while we do not question this conclusion, the assumption that a lower dose of ibrutinib will suffice to stoichiometrically inhibit BTK is in contradiction with our study and observed data. Such a phenomenon, which could be assimilated to the target-mediated drug disposition described for monoclonal antibody drugs, would be associated with a systematic decrease of ibrutinib clearance over time. In our population, no systematical decrease of clearance values over time was observed. Mean plasmatic ibrutinib and DHD-ibrutinib concentrations increased proportionally with the dose (Fig. 1). The model showed no evidence of a target-mediated drug disposition for ibrutinib and as described by the model equations, ibrutinib pharmacokinetics is linear and does not depend on the dose nor on time.

Finally, we explored the relationship between ibrutinib plasmatic exposure at the M1 visit and discontinuation of ibrutinib therapy 12 months after inclusion. This endpoint is an important surrogate as it has been shown that stopping ibrutinib treatment during the first year of therapy has a negative impact on overall survival and progression-free survival [26]. Patients who had treatment discontinuation for toxicity had higher plasmatic ibrutinib exposure. This

association was found to be statistically significant despite the substantial intra-individual variability. No trend was observed in the case of treatment discontinuation for disease progression in patients with CLL. A trend was visible for patients with MCL: patients having disease progression had lower exposure. This result is not statistically significant and is observed in a small number of patients, it should be further investigated. A complete and final PK-PD relationship analysis will be conducted when all patients complete their clinical monitoring. Our PK model could be used to improve adherence to ibrutinib by optimising dosing regimens, especially during the first year of treatment and consequently increase overall survival.

The results we present in this work are useful to assess the relevance of practicing TDM for ibrutinib. To date, no reference levels or TDM recommendations for ibrutinib have been published. Ibrutinib stability at ambient temperature within plasma samples makes TDM practically feasible. Additionally, the model could be used to estimate this daily AUC from a limited number of samples. On the one hand, ibrutinib shows high inter-individual variability and we found no covariate that could be assessed a priori to reduce this variability. Furthermore, higher ibrutinib AUC was found to be associated with the occurrence of adverse drug reactions. Therefore, TDM could be useful to predict which patients are at higher risk of drug-induced toxicity. On the other hand, intra-individual variability is high, which is not in favor of establishing TDM, but this variability could be reduced by better control of food conditions at the moment of drug intake. Regarding these results, the interest in establishing TDM for ibrutinib should be further investigated.

## 5 Conclusions

This popPK model based on both ibrutinib and DHD-ibrutinib concentrations fits the data well and was validated on an external population. No covariates with a clinically relevant effect on ibrutinib or DHD-ibrutinib exposure were identified. A significant association was found between treatment discontinuation for toxicity and exposure to ibrutinib. This PK-PD relationship concurs with the large inter-individual PK variability of ibrutinib, and was observed despite substantial intra-individual variability. This finding represents a first rationale for TDM of ibrutinib, which the present PK model can help develop and thus improve patients' adherence to ibrutinib and increase response to treatment. Furthermore, this PK model can be used for PK-PD modelling describing lymphocyte dynamics under ibrutinib treatment.

## Compliance with Ethical Standards

**Funding** This study has been supported by the French National Drug Agency (ANSM), the French National Research Agency (ANR, project CAPTOR PHUC-001), and the AVIESAN, INCa and INSERM Plan Cancer program (project C15092BS).

**Conflict of interest** Loïc Ysebaert received grant support and honorarium fees from Roche, Abbvie, Gilead and Janssen, but not in the scope of the present study. Lucie Obéric received honorarium fees from Roche and Janssen, but not in the scope of the present study. Fanny Gallais, Fabien Despas, Sandra De Barros, Loïc Dupré, Anne Quillet-Mary, Caroline Protin, Fabienne Thomas, Ben Allal, Etienne Chatelut and Mélanie White-Koning have no conflicts of interest that are directly relevant to the content of this article.

**Ethics Approval** The study was conducted in compliance with ethical standards.

**Consent to Participate** All patients gave their written informed consent.

## References

- Smith MR. Ibrutinib in B lymphoid malignancies. *Expert Opin Pharmacother*. 2015;16(12):1879–87.
- Honigberg LA, Smith AM, Sirisawad M, Verner E, Loury D, Chang B, et al. The Bruton tyrosine kinase inhibitor PCI-32765 blocks B-cell activation and is efficacious in models of autoimmune disease and B-cell malignancy. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107(29):13075–80.
- Niir H, Clark EA. Regulation of B-cell fate by antigen-receptor signals. *Nat Rev Immunol*. 2002;2(12):945–56.
- Woyach JA, Johnson AJ, Byrd JC. The B-cell receptor signaling pathway as a therapeutic target in CLL. *Blood*. 2012;120(6):1175–84.
- Byrd JC, Furman RR, Coutre SE, Flinn IW, Burger JA, Blum KA, et al. Targeting BTK with ibrutinib in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 2013;369(1):32–42.
- Ponader S, Chen S-S, Buggy JJ, Balakrishnan K, Gandhi V, Wierda WG, et al. The Bruton tyrosine kinase inhibitor PCI-32765 thwarts chronic lymphocytic leukemia cell survival and tissue homing in vitro and in vivo. *Blood*. 2012;119(5):1182–9.
- de Rooij MFM, Kuil A, Geest CR, Eldering E, Chang BY, Buggy JJ, et al. The clinically active BTK inhibitor PCI-32765 targets B-cell receptor- and chemokine-controlled adhesion and migration in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2012;119(11):2590–4.
- Scheers E, Leclercq L, de Jong J, Bode N, Bockx M, Laenen A, et al. Absorption, metabolism, and excretion of oral <sup>14</sup>C radiolabeled ibrutinib: an open-label, phase I, single-dose study in healthy men. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem*. 2015;43(2):289–97.
- de Jong J, Skee D, Murphy J, Sukbuntherng J, Helleman P, Smit J, et al. Effect of CYP3A perpetrators on ibrutinib exposure in healthy participants. *Pharmacol Res Perspect*. 2015;3(4):e00156.
- European Medicines Agency. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). 24 July 2014, EMA/CHMP/645137/2014. [https://www.ema.europa.eu/documents/assessment-report/imbruvica-epar-public-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/documents/assessment-report/imbruvica-epar-public-assessment-report_en.pdf). Accessed 11 Mar 2020.
- Marostica E, Sukbuntherng J, Loury D, de Jong J, de Trixhe XW, Vermeulen A, et al. Population pharmacokinetic model of ibrutinib, a Bruton tyrosine kinase inhibitor, in patients with B cell malignancies. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2015;75(1):111–21.
- Elens L, van Gelder T, Hesselink DA, Haufroid V, van Schaik RHN. CYP3A4\*22: promising newly identified CYP3A4 variant allele for personalizing pharmacotherapy. *Pharmacogenomics*. 2013;14(1):47–62.
- Lee S-J, Goldstein JA. Functionally defective or altered CYP3A4 and CYP3A5 single nucleotide polymorphisms and their detection with genotyping tests. *Pharmacogenomics*. 2005;6(4):357–71.
- Yates CR, Zhang W, Song P, Li S, Gaber AO, Kotb M, et al. The effect of CYP3A5 and MDR1 polymorphic expression on cyclosporine oral disposition in renal transplant patients. *J Clin Pharmacol*. 2003;43(6):555–64.
- Sheiner LB, Beal SL. Some suggestions for measuring predictive performance. *J Pharmacokinet Biopharm*. 1981;9(4):503–12.
- Baverel PG, Dubois VFS, Jin CY, Zheng Y, Song X, Jin X, et al. Population pharmacokinetics of durvalumab in cancer patients and association with longitudinal biomarkers of disease status. *Clin Pharmacol Ther*. 2018;103(4):631–42.
- Lindauer A, Di Gion P, Kanefendt F, Tomalik-Scharte D, Kinzig M, Rodamer M, et al. Pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling of biomarker response to sunitinib in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther*. 2010;87(5):601–8.
- Yu H, van Erp N, Bins S, Mathijssen RHJ, Schellens JHM, Beijnen JH, et al. Development of a pharmacokinetic model to describe the complex pharmacokinetics of pazopanib in cancer patients. *Clin Pharmacokinet*. 2017;56(3):293–303.
- ter Heine R, Binkhorst L, de Graan AJM, de Bruijn P, Beijnen JH, Mathijssen RHJ, et al. Population pharmacokinetic modelling to assess the impact of CYP2D6 and CYP3A metabolic phenotypes on the pharmacokinetics of tamoxifen and endoxifen. *Br J Clin Pharmacol*. 2014;78(3):572–86.
- Bertrand J, Laffont CM, Mentré F, Chenel M, Comets E. Development of a complex parent-metabolite joint population pharmacokinetic model. *AAPS J*. 2011;13(3):390–404.
- Kerbusch T, Wahlby U, Milligan PA, Karlsson MO. Population pharmacokinetic modelling of darifenacin and its hydroxylated metabolite using pooled data, incorporating saturable first-pass metabolism, CYP2D6 genotype and formulation-dependent bioavailability. *Br J Clin Pharmacol*. 2003;56(6):639–52.
- Chen S-S, Chang BY, Chang S, Tong T, Ham S, Sherry B, et al. BTK inhibition results in impaired CXCR4 chemokine receptor surface expression, signaling and function in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*. 2016;30(4):833–43.
- Cervantes-Gomez F, Kumar Patel V, Bose P, Keating MJ, Gandhi V. Decrease in total protein level of Bruton's tyrosine kinase during ibrutinib therapy in chronic lymphocytic leukemia lymphocytes. *Leukemia*. 2016;30(8):1803–4.
- Chen LS, Bose P, Cruz ND, Jiang Y, Wu Q, Thompson PA, et al. A pilot study of lower doses of ibrutinib in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2018;132(21):2249–59.
- Mato AR, Timlin C, Ujjani C, Skarbnik A, Howlett C, Banerjee R, et al. Comparable outcomes in chronic lymphocytic leukaemia (CLL) patients treated with reduced-dose ibrutinib: results from a multi-centre study. *Br J Haematol*. 2018;181(2):259–61.
- Follows GA, Forum UKC. Outcomes of patients post ibrutinib treatment for relapsed/refractory CLL: a UK and Ireland analysis. *Hematol Oncol*. 2017;35(S2):237–8.

## Affiliations

**Fanny Gallais<sup>1</sup> · Loïc Ysebaert<sup>1,2</sup> · Fabien Despas<sup>3</sup> · Sandra De Barros<sup>4</sup> · Loïc Dupré<sup>5</sup> · Anne Quillet-Mary<sup>1</sup> · Caroline Protin<sup>2</sup> · Fabienne Thomas<sup>1,6</sup> · Lucie Obéric<sup>2</sup> · Ben Allal<sup>1,6</sup> · Etienne Chatelut<sup>1,6</sup> · Mélanie White-Koning<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Cancer Research Center of Toulouse, INSERM, UMR-1037, CNRS ERL5294, Paul Sabatier University, Toulouse, France

<sup>2</sup> Department of Hematology, Institut Universitaire du Cancer de Toulouse-Oncopole, 1 avenue Irène Joliot-Curie, 31059 Toulouse, France

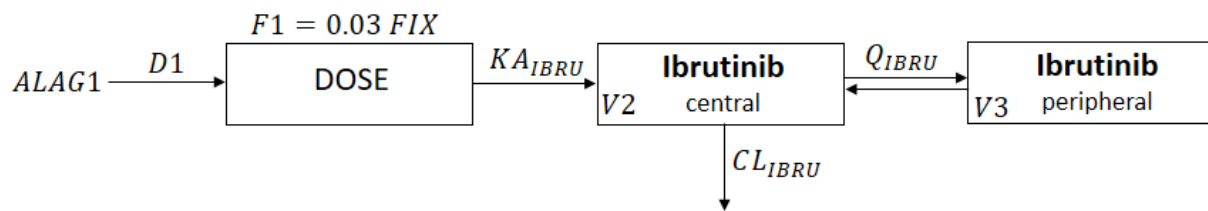
<sup>3</sup> Department of Medical and Clinical Pharmacology, Centre of Pharmacovigilance, Pharmacoepidemiology and Drug Information, INSERM, UMR-1027, Pharmacoepidemiology, Assessment of Drug Utilization and Drug Safety, CIC 1426, Toulouse University Hospital, Toulouse, France

<sup>4</sup> Department of Medical and Clinical Pharmacology, Toulouse University Hospital, Toulouse, France

<sup>5</sup> Center for Pathophysiology of Toulouse Purpan, INSERM UMR1043, CNRS UMR5282, Paul Sabatier University, Toulouse, France

<sup>6</sup> Laboratory of Pharmacology, Institut Claudius Regaud, Institut Universitaire du Cancer de Toulouse-Oncopole, Toulouse, France





**Online resource 1** Final popPK model for ibrutinib. The absorption was delayed with a lag time  $ALAG1$  and was modelled by a zero-first order sequential process where  $D1$  is the parameter for zero-order absorption and  $KA_{ibru}$  is the parameter for first-order absorption. Bioavailability parameter  $F1$  was fixed to 3% and interindividual variability was estimated on  $F1$ . A 2 compartments model best fitted ibrutinib observations:  $V2$  and  $V3$  are central and peripheral ibrutinib volumes of distribution respectively,  $Q_{ibru}$  is intercompartmental clearance. Ibrutinib's elimination was linear with a clearance  $CL_{ibru}$

	$CL_{IBRU}$	$CL_{DHD}$	$V_2$	$V_3$	$CL_{MET}$	$KA_{DHD}$	$D1$	$ALAG1$
$CL_{IBRU}$	66.5%							
$CL_{DHD}$	67%	50.7%						
$V_2$	97%	64%	81.8%					
$V_3$	91%	68%	89%	76.9%				
$CL_{MET}$	6%	64%	0	0	64.4%			
$KA_{DHD}$	70%	56%	68%	75%	38%	64.2%		
$D1$	0	0	0	0	0	0	115.2%	
$ALAG1$	0	0	0	0	0	0	43%	80.6%

**Online resource 2** Variance-covariance OMEGA matrix of final ibrutinib and DHD-ibrutinib popPK model

## 2.4 Modélisation de l'évolution du taux de lymphocytes circulants chez des patients atteints de LLC traités par ibrutinib

### 2.4.1 *Article n°2*

Ces travaux ont fait l'objet d'une soumission dans le journal *Clinical Cancer Research*.

# **Population pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling of circulating lymphocyte dynamics in chronic lymphocytic leukemia patients under ibrutinib treatment**

Fanny Gallais<sup>1</sup>, Loïc Ysebaert<sup>1,2</sup>, Fabien Despas<sup>3</sup>, Sandra De Barros<sup>4</sup>, Lucie Obéric<sup>2</sup>, Ben Allal<sup>1,5</sup>, Etienne Chatelut<sup>1,5</sup>, Mélanie White-Koning<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Cancer Research Center of Toulouse, INSERM UMR-1037, CNRS ERL5294, Paul Sabatier University, Toulouse, France

<sup>2</sup> Department of Hematology, Institut Universitaire du Cancer de Toulouse - Oncopole, Toulouse, France

<sup>3</sup> Department of Medical and Clinical Pharmacology, Centre of PharmacoVigilance, Pharmacoepidemiology and Drug Information, INSERM UMR-1027, Pharmacoepidemiology, Assessment of Drug Utilization and Drug Safety, CIC 1426, Toulouse University Hospital, Toulouse, France

<sup>4</sup> Department of Medical and Clinical Pharmacology, Toulouse University Hospital, Toulouse, France

<sup>5</sup> Laboratory of Pharmacology, Institut Claudius Regaud, Institut Universitaire du Cancer de Toulouse - Oncopole, Toulouse, France

## **Corresponding author**

Pr Etienne Chatelut, PharmD, PhD

Laboratoire de pharmacologie, Institut Claudius-Regaud, Institut Universitaire du Cancer de Toulouse-Oncopole, 1 avenue Irène Joliot-Curie  
F-31100 Toulouse, France  
chatelut.etienne@iuct-oncopole.fr

**Running title:** PK-PD model of lymphocytes in CLL patients under ibrutinib

**Keywords:** ibrutinib, chronic lymphocytic leukemia, absolute lymphocyte count, pharmacokinetics-pharmacodynamics, modelling



### **Compliance with ethical standards**

The study was conducted in compliance with ethical standards. All patients gave their written informed consent.

### **Conflicts of interest**

Loïc Ysebaert received grant support and honorarium fees from Roche, Abbvie, Gilead, Janssen, but not in the scope of the present study. Lucie Obéric received honorarium fees from Roche and Janssen, but not in the scope of the present study.

### **Funding**

This study was supported by the French National Drug Agency (ANSM), the French National Research Agency (ANR, project CAPTOR PHUC-001) and the AVIESAN, INCa and INSERM Plan Cancer program (project C15092BS).

### **Statement of translational relevance**

Absolute lymphocyte count (ALC) is a major clinical criterion used for the monitoring of chronic lymphocytic leukemia (CLL). In this work, we present the first pharmacokinetic-pharmacodynamic model to capture ALC dynamics in CLL patients under ibrutinib treatment. In particular, different types of ALC profiles including hyperlymphocytosis were adequately identified. The impact of ibrutinib pharmacokinetics on ALC was also quantified. We proved that the response to ibrutinib treatment is linked to the estimated baseline ALC in tissues and blood. The model may help identify, at an early stage of treatment, patients who would be likely to have a durable response with single agent ibrutinib and those who might rather benefit from another treatment (another drug alone or a combined with ibrutinib).

## **Abstract**

**Background:** Ibrutinib is indicated for the treatment of chronic lymphocytic leukemia (CLL). Absolute lymphocyte count (ALC) is a clinical criterion used for the monitoring of CLL. Ibrutinib has several effects on lymphocytes, and has highly variable pharmacokinetics (PK). The objective of this work was to build a PK-pharmacodynamic (PD) model describing ALC dynamics under ibrutinib treatment in CLL patients.

**Methods:** ALC observations before and after ibrutinib treatment initiation in CLL patients were included in the analysis. A population PK-PD model was developed based on physio-pharmacological knowledge. Individual PK concentrations at each hospital visit were included in the model. The association between PD parameters and lymphocytosis, and between PD parameters and response to treatment were assessed.

**Results:** A total of 94 patients, 658 ALC and 1501 PK observations were included in model development. The final PK-PD model accurately described ALC dynamics for different patient profiles. It consisted in two compartments (tissues and blood circulation) with ibrutinib plasmatic concentration inducing two drug effects: stimulation of lymphocytes redistribution and death. Patients with hyperlymphocytosis had significantly higher tissues to circulation baseline lymphocyte count ratio, and lower death effect. Patients who progressed under ibrutinib had significantly lower baseline lymphocyte counts in tissues (2-fold lower) and blood (3-fold lower).

**Conclusion:** The first PK-PD model for ALC in CLL patients under ibrutinib treatment was developed. This model suggests that estimated lymphocyte counts in tissues and blood could be used as an early predictor of response in CLL patients.

# 1 Introduction

Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is the most common type of leukemia in adults in Western countries. According to the European report on CLL provided by the Lymphoma Coalition, CLL affected 5/100 000 worldwide in 2011 (1). CLL affects mainly elderly men, with a median age at diagnostic of 72 years old. The disease is characterized by the clonal proliferation and the accumulation of abnormal B-cells in bone marrow, lymphoid organs and blood (2). Patient survival rates are high with an estimated 85% five-year survival rate (3) but also depends on some prognostic factors such as unmutated Immunoglobulin Heavy Chain Variable (*IGHV*) and the deletion of chromosome 17 (*del(17p)*) (4,5). This heterogeneity translates into different strategies for patient management. In the past few years, new targeted therapies including monoclonal antibodies and specific inhibitors were developed and approved by the authorities for the treatment of CLL, besides chemoimmunotherapy. These inhibitors are thought to progressively replace chemotherapy in the frontline and relapsed/refractory settings (2,6). Ibrutinib, the first-in-class covalent inhibitor of the Bruton tyrosine kinase (BTK) (7), approved in 2014, binds covalently to BTK cysteine-481 amino acid causing its irreversible inhibition. The point of this inhibition is to block the B-cell receptor (BCR) signaling pathway as BTK is known to be an essential component of this cascade (8). BCR was identified as playing a major role in CLL and other B-cell malignancies, as it is involved in proliferation, survival and microenvironment interactions of the tumoral lymphocytes (9,10).

According to the international workshop on CLL guidelines from 2018, absolute lymphocyte count (ALC) is a major clinical criterion used for the diagnosis, response assessment and monitoring of CLL, despite being obviously a mix of normal and cancer cells (11). In absence of treatment, ALC increases exponentially or logistically (12). Ibrutinib has several effects on B-cell lymphocytes: reduction of proliferation, stimulation of release from the tissues into the circulation, inhibition of homing and stimulation of death (13–15). Under ibrutinib, different profiles of ALC dynamics have been observed. In particular, some patients show an increase of their ALC (hyperlymphocytosis, HL) at the beginning of their treatment (16,17). This paradoxical effect is now recognized as a class effect and is due to both active release (*i.e.* egress) and inhibition of rehoming to tissue niches (including, though not limited to: lymph nodes, spleen/liver, bone marrow, skin, intestinal tract) (13,17). This temporary HL is mainly asymptomatic and with time, ALC resolves to normal values. Some studies have suggested that patients with HL may have longer progression free survival (18,19).

One major observation of ibrutinib's pharmacokinetics (PK) studies is the high variability between patients, mainly due to high first-pass hepatic metabolism leading to a very poor bioavailability (mean F of 2.9%) (20). Ibrutinib is mainly metabolized through cytochrome P450 3A4, into dihydrodiol

ibrutinib, which is 15 times less active but has plasmatic concentrations up to twice as those of ibrutinib (21). PK may play a role in response to treatment. Wodarz et al. proposed a first mathematical model describing CLL cells dynamics under ibrutinib treatment (22). It was a simple model composed of a system of two ordinary differential equations. However, this model was developed on a small number of patients and did not take into account PK and its inter-individual variability. In this work, we aim to study for the first time the relationship between ibrutinib's PK and response to treatment (pharmacodynamics, PD) in terms of ALC dynamics in CLL patients. Based on physio-pharmacological knowledge, we developed a semi-mechanistic PK-PD model using a population approach in order to quantify PD interindividual variability and explore the relationship between PD parameters and response to treatment.

## **2 Methods**

### **2.1 Patients and data**

An observational PK-PD clinical trial named "PK-E3i" was initiated at the IUCT-Oncopole hospital of Toulouse (France) in 2016. The study was approved by the competent authority (ANSM, under the N°151668A-11) and the ethical committee (under the N°CPP16-004a), registered by ClinicalTrials.gov under n° NCT02824159. Among the patients included in PK-E3i, only CLL patients treated with ibrutinib were used for the present analysis. These patients were enrolled in the clinical trial from 2016 to 2018 and followed-up for two years, or until disease progresses or treatment stops due to the occurrence of adverse effects. A total of eight hospital visits were planned: at inclusion and 1, 2, 3, 6, 12, 18 and 24 months after inclusion. Clinical and biological examinations were performed at each visit. The ALC was assessed during the biological exam. PK blood sampling was performed at month 1 (six samples: before drug administration, and 0.5, 1, 2, 4, 6 hours after drug administration) and at months 2, 3, 6 and 12 (one sample before drug administration).

The data needed for model development was the ALC at different time points, before or during ibrutinib treatment. In the PK-E3i study protocol, only one observation was planned before the initiation of the treatment (inclusion visit). To enrich our dataset and enable model development, additional data was obtained from PK-E3i patients with available pre-treatment ALC observations. Moreover, additional patients with available ALC observations before their first line of treatment with ibrutinib or chemotherapy were included in the analysis. These data were recovered from IUCT-Oncopole hospital routine clinical care patients' records. Two datasets were used in the analysis. The full dataset contained all the patients and data mentioned above. The reduced dataset included only the patients treated with ibrutinib (with ALC observations before and/or after initiation of treatment).

## 2.2 Model development

### Base PK-PD model

The structure of the PD part of the model was based on a simple representation of the physiological behavior of lymphocytes. The model consisted in two compartments, one representing tissues (mainly lymph nodes) and the other one representing blood circulation. The model had to include, at least, proliferation in lymph nodes, release from tissues to blood circulation and death of circulating lymphocytes. Death in tissues and return from circulation to tissues (homing) were also tested in the model. Linear and logistic functions were both tested to describe lymphocyte growth before the beginning of treatment, as both behaviors were observed in non-treated CLL patients (12). The baseline lymphocyte count was assessed both in the tissues compartment ( $BASE_1$ ) and in the blood compartment ( $BASE_2$ ).  $BASE_2$  was estimated based on ALC observations. As no observations were available for the tissue compartment, we estimated a proportionality coefficient between  $BASE_1$  and  $BASE_2$ , as these two quantities are related. Finally, an offset term in the second compartment to describe ALC stabilization over time was estimated.

The PK part of the model was based on a previously developed PK model for ibrutinib and its dihydrodiol metabolite (21). This model was developed using the PK-E3i study ibrutinib cohort. As a result, individual PK posthoc parameters were available for these patients. Regarding patients that were not included in PK-E3i, typical PK parameters were used, as no ibrutinib plasma concentrations were available for these patients. Two ways of including the PK into our PK-PD model were investigated. The first approach consisted in predicting the individual ibrutinib concentrations (i.e. capturing fluctuation between Cmax and Cmin) using the PK model differential equations and the individual PK posthoc parameters. The second approach was simpler as it consisted in calculating a mean individual ibrutinib concentration ( $C_{avg,i,j}$ ) based on the PK posthoc parameters defined as followed:

$$C_{avg,i,j} = \frac{\left( \frac{KA_{ibru}}{KA_{ibru} + KA_{DHD_i}} \right) \cdot Dose_{i,j}}{\tau * CL_{i,j}}$$

Where  $KA_{ibru}$  is ibrutinib constant of absorption and  $KA_{DHD_i}$  is the transit constant from the dosing compartment to the dihydrodiol-ibrutinib central compartment for individual  $i$ .  $CL_{i,j}$  is the posthoc oral clearance for each individual  $i$  at each sample collection time  $j$  (hospital visit). The clearance includes ibrutinib clearance of elimination and clearance of metabolization into dihydrodiol ibrutinib.  $\tau$  is the dosing interval. These individual concentrations were then used to compute drug effects in the PK-PD model. Tested drug effects were based on physio-pharmacological knowledge of ibrutinib

effects on lymphocytes. They included inhibition of proliferation in lymph nodes, stimulation of redistribution from lymph nodes into blood circulation, inhibition of homing and stimulation of lymphocytes death. The drug effects were implemented as separate linear functions of  $C_{avg,i,j}$  with  $Drug_{k,i,j} = Slope_k * C_{avg,i,j}$  after ibrutinib administration and  $Drug_{k,i,j} = 0$  otherwise.

The PK-PD model was developed using the full dataset. Model selection and evaluation were based on the objective function value (OFV), goodness-of-fit plots, visual predictive checks, residual variability, relative standard errors (RSE), stability of the estimates and shrinkage values. The model was developed in NONMEM version 7.4.1 (ICON Development Solutions, Ellicott City, MD, USA) using the first order conditional estimation with interaction estimation method (FOCE-I).

### Covariate analysis

The covariate analysis was performed on the final base PK-PD model which was applied to the reduced dataset. The tested covariates included factors that may play a role in CLL prognosis: Binet clinical stage, B symptoms at baseline, lymphadenopathy at baseline, deletion del(17)p, deletion del(11)q, tp53 gene mutation, IGHV mutational status, complex karyotype, sex and age. The effect of covariates was tested on all parameters (drug-effect, baseline, transition constants). Continuous covariates were modelled as a power function, while categorical covariates were added to the model in a multiplicative form. First, a univariate analysis was performed. Covariates associated with a decrease in OFV greater than 3.84 ( $\chi^2$  test, df=1,  $p \leq 0.05$ ) were selected for multivariate analysis. All significant covariates were gathered in the model and removed one by one. If the removal led to an increase of OFV greater than 6.6 ( $\chi^2$  test, df=1,  $p \leq 0.01$ ), the covariate was kept in the model, it was definitively removed otherwise. For covariates with a high number of missing values, it was decided to remove the patients with missing values from the analysis to allow the quantification of the covariate effect.

## **2.3 Investigation on model posthoc parameters**

As reported in the main ibrutinib clinical trials RESONATE and RESONATE-2, HL was defined as a  $\geq 50\%$  increase in ALC compared with baseline and an absolute cell count  $\geq 5$  G/L (16). The Wilcoxon statistical test was used to compare PK-PD posthoc parameters between patients who did or did not have HL and determine which parameters were associated with HL. In the PK-E3i cohort, PK-PD posthoc parameters were also compared between patients who had disease progression and those who did not. Finally, the association between HL and disease progression was evaluated.

### 3 Results

A total of 94 patients were included in model development. Of these, 77 patients participated in the PK-E3i study, 14 of whom had additional pre-treatment ALC observations. An additional 17 patients were not included in the PK-E3i study and had ibrutinib (n=7) or chemotherapy (n=10) as first line of treatment. Patients' characteristics are summarized in

Table 1. ALC observations consisted in 218 pre-treatment observations (31 patients) and 440 post-ibrutinib treatment observations (83 patients). The full dataset was constituted of 94 patients and 658 observations, the reduced dataset was contained 83 patients and 596 observations. Observed data are represented in Figure 1.

Table 1 – Patients' characteristics

Characteristic	Continuous variables: mean ± standard error [range] Categorical variables: number (%)	Characteristic	Continuous variables: mean ± standard error [range] Categorical variables: number (%)
Age (years)	67.4 ± 9.8 [31.1-84.5]	Deletion 11q	
		No	48 (51.1%)
		Yes	28 (29.8%)
		Missing	18 (19.1%)
Sex		Tp53 gene mutation	
Male	35 (37.2%)	No	42 (44.7%)
Female	59 (62.8%)	Yes	32 (34%)
		Missing	20 (21.3%)
Binet stage <sup>a</sup>		IGHV mutational status	
A	14 (14.9%)	Unmutated	23 (24.5%)
B	43 (45.7%)	Mutated	67 (71.3%)
C	36 (38.3%)	Missing	4 (4.3%)
Missing	1 (1.1%)		
B symptoms <sup>a</sup>		Complex karyotype	
No	58 (61.7%)	No	41 (43.6%)
Yes	18 (19.1%)	Yes	40 (42.6%)
Missing	18 (19.1%)	Missing	13 (13.8%)
Deletion 17p		Lymphadenopathy <sup>a</sup>	
No	46 (48.9%)	No	47 (50%)
Yes	31 (33%)	Yes	29 (30.9%)
Missing	17 (18.1%)	Missing	18 (19.1%)

(a) At the onset of treatment, IGHV: Immunoglobulin Heavy Chain Variable

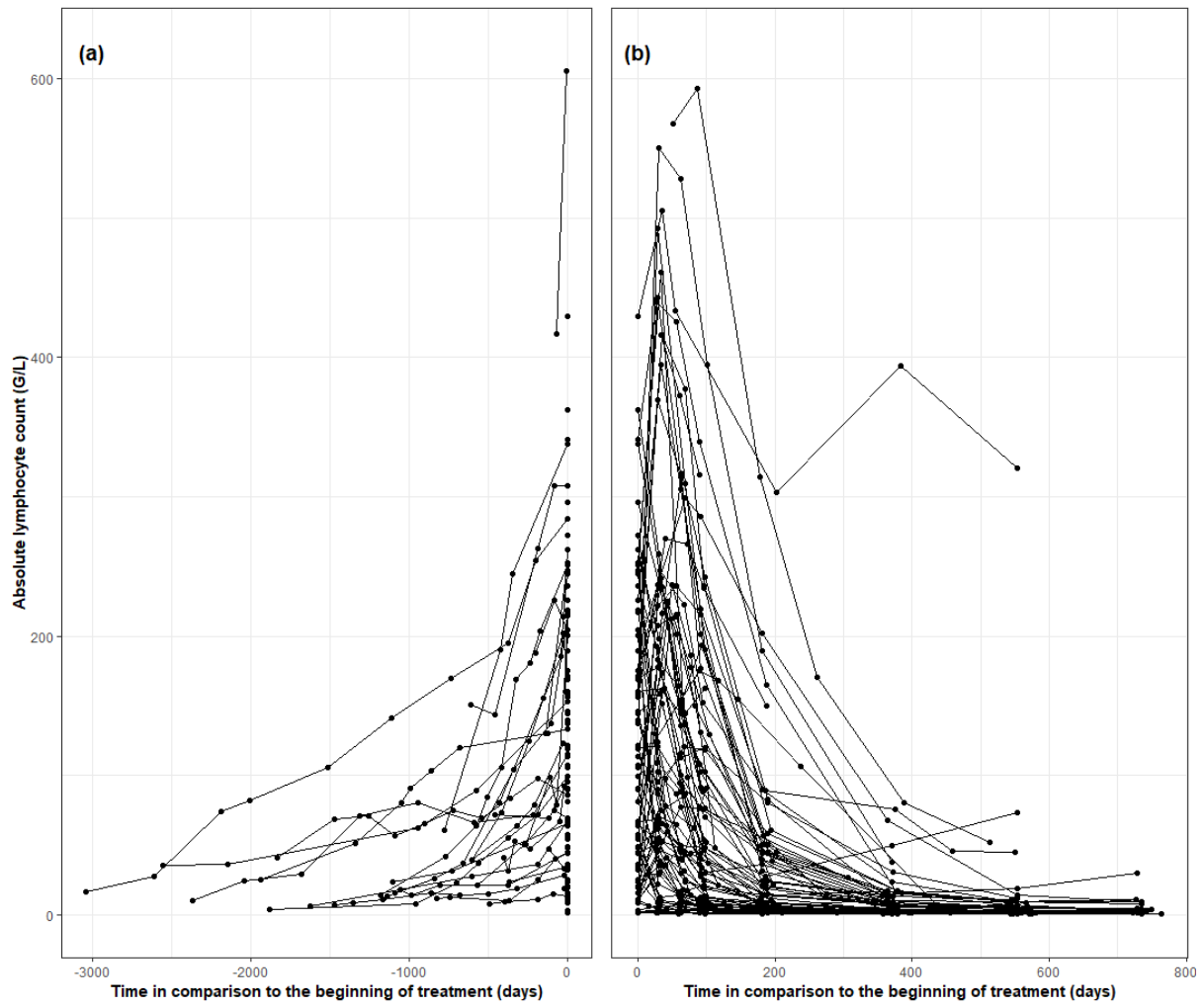


Figure 1 – Observed absolute lymphocyte count before (a) and after (b) the beginning of treatment

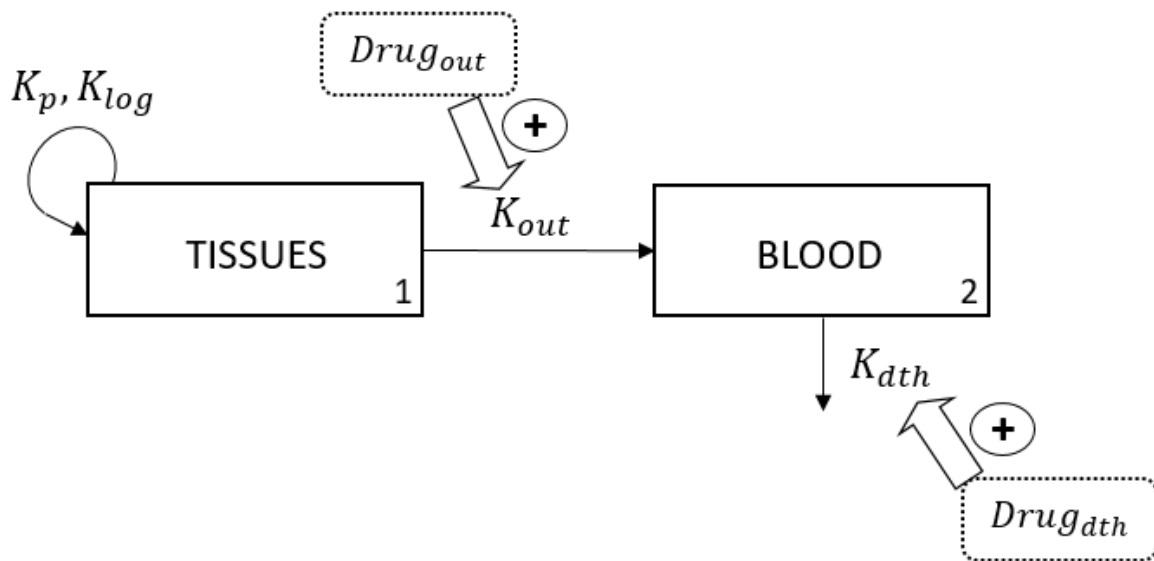


Figure 2 – Schematic representation of final PK-PD model



$Drug_{out} = slope_{out} * C_{avg}$  and  $Drug_{dth} = slope_{dth} * C_{avg}$  where  $C_{avg}$  is the individual average ibrutinib concentration.

The final PK-PD model is presented in Figure 2. It consisted in two compartments, one for tissues (mainly lymph nodes), and one for blood circulation. Lymphocytes proliferate in lymph nodes ( $K_p$ ), are released into the blood circulation ( $K_{out}$ ) where they die ( $K_{dth}$ ). The lymphocyte growth was best described by a logistic function ( $K_{log}$ ). An offset term ( $off_2$ ) was added in the equation associated to the blood compartment to describe the stabilization of ALC. For the PK part, the model including the individual predicted ibrutinib concentrations (i.e. capturing fluctuation between Cmax and Cmin) led to an equivalent fit of the data and very close parameter estimates, but a highly increased computational time compared to the model including the PK as an average individual concentration. Therefore, we chose the second approach. Two drug effects were estimated: stimulation of redistribution ( $Drug_{out} = Slope_{out} * C_{avg}$ ) and stimulation of death ( $Drug_{dth} = Slope_{dth} * C_{avg}$ ). The corresponding differential equations were the following:

$$\frac{dA1}{dt} = K_p * A1 * \left( \frac{K_{log} - A1}{K_{log}} \right) - K_{out} * (1 + Drug_{out}) * A1 \quad (1)$$

$$\frac{dA2}{dt} = K_{out} * (1 + Drug_{out}) * A1 - K_{dth} * (1 + Drug_{dth}) * (A2 - off_2) \quad (2)$$

Where (1) is the differential equation for the tissues compartment and (2) is the differential equation for the blood circulation compartment. Baseline ALC was estimated in the blood compartment ( $BASE_2$ ). In the tissues compartment,  $BASE_1$  was calculated as  $BASE_1 = c_B * BASE_2$  where  $c_B$  was estimated. The average values of  $BASE_1$  and  $BASE_2$  in the population were 203 G/L and 41 G/L, respectively. Average proliferation ( $K_p$ ), redistribution ( $K_{out}$ ) and death ( $K_{dth}$ ) rates in the population were 0.005 /day, 0.003 /day and 0.01 /day, respectively. The average effect of ibrutinib on redistribution ( $Slope_{out}$ ) and death ( $Slope_{dth}$ ) in the population were 0.24 /nM and 0.15 /nM, respectively. Inter-individual variability was estimated for  $BASE_2$ ,  $c_B$ ,  $Slope_{out}$  and  $Slope_{dth}$ . The detail of the parameter estimates and the precision of the estimations are given in Supplementary Table S1. The model showed good prediction performances and was able to describe all types of ALC profiles (Figure 3). A similar model using ibrutinib plasmatic concentration calculated from mean ibrutinib PK parameters for all patients led to an increase of 19 points in OFV and increased interindividual variability for all PD parameters (1.03-fold, 1.4-fold and 1.5-fold increase in the interindividual variability estimate of  $BASE_2$ ,  $c_B$  and  $off_2$  respectively) compared to our final model (with individual plasmatic concentration values  $C_{avg_{i,j}}$ ). Finally, a thorough covariate analysis was performed. All selected covariates were tested on  $BASE_2$ ,  $c_B$ ,  $Slope_{out}$  and  $Slope_{dth}$ . None of the tested covariates was associated with a statistically significant drop in OFV.

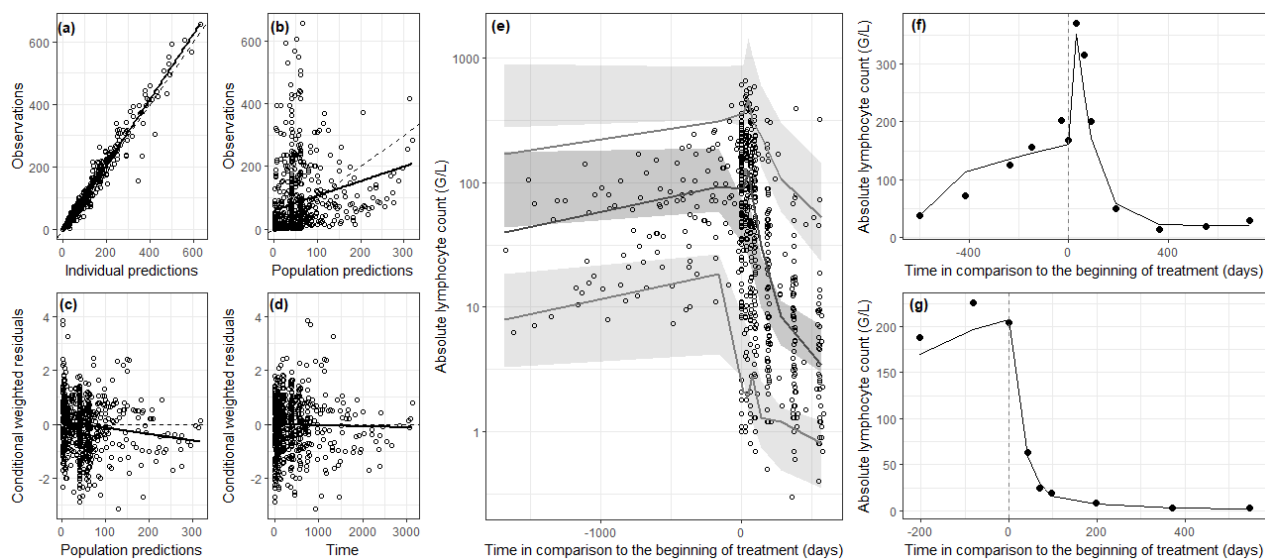


Figure 3 - Goodness of fit plots (a to d) and visual predictive checks (e) for the base PK-PD model. Examples of individual fits (f,g) (circles: observations, line: individual model prediction)

Supplementary Table S1 - Parameter estimates for base PK-PD model

Parameter	Estimation (RSE,%) [Shrinkage,%] Base model (n=94)
$K_p$ ( $day^{-1}$ )	0.0045 (13%)
$K_{log}$ (G/L)	4720 (39%)
$K_{out}$ ( $day^{-1}$ )	0.0033 (17%)
$K_{dth}$ ( $day^{-1}$ )	0.0113 (18%)
$off_2$ (G/L)	2.56 (18%)
$\omega_{off_2}$ (CV, %)	135% (10%) [25%]
$BASE_2$ (G/L)	41.2 (19%)
$\omega_{Base_2}$ (CV, %)	251% (10%) [1%]
$c_B$ (unitless)	4.93 (20%)
$\omega_{c_B}$ (CV, %)	84% (16%) [27%]
$Slope_{out}$ ( $nM^{-1}$ )	0.24 (22%)
$\omega_{Slope_{out}}$ (CV, %)	97% (13%) [19%]
$Slope_{dth}$ ( $nM^{-1}$ )	0.15 (31%)
$\omega_{Slope_{dth}}$ (CV, %)	225% (15%) [25%]
Proportional residual variability $\sigma$ (CV, %)	25% (6%) [23%]

RSE: residual standard error,  $\omega$ : interindividual variability, CV: coefficient of variation

The PD posthoc parameters were compared between patients who had HL and those who did not. The association was evaluated through boxplot representations and Wilcoxon statistical testing. Out of 83 patients who had post-ibrutinib ALC observations, 32 patients had HL. Patients with HL had a statistically significantly higher  $c_B$  ( $p=2.2 \cdot 10^{-6}$ ), which was expected given the model structure. No difference was observed in  $Slope_{out}$  ( $p=0.57$ ), even when limiting the analysis to patients having pre- and post-treatment observations ( $n=20$ ) ( $p=0.91$ ). In addition, patients with HL had lower mean  $Slope_{dth}$  ( $p=1.3 \cdot 10^{-7}$ ). The results are presented in Figure 4.

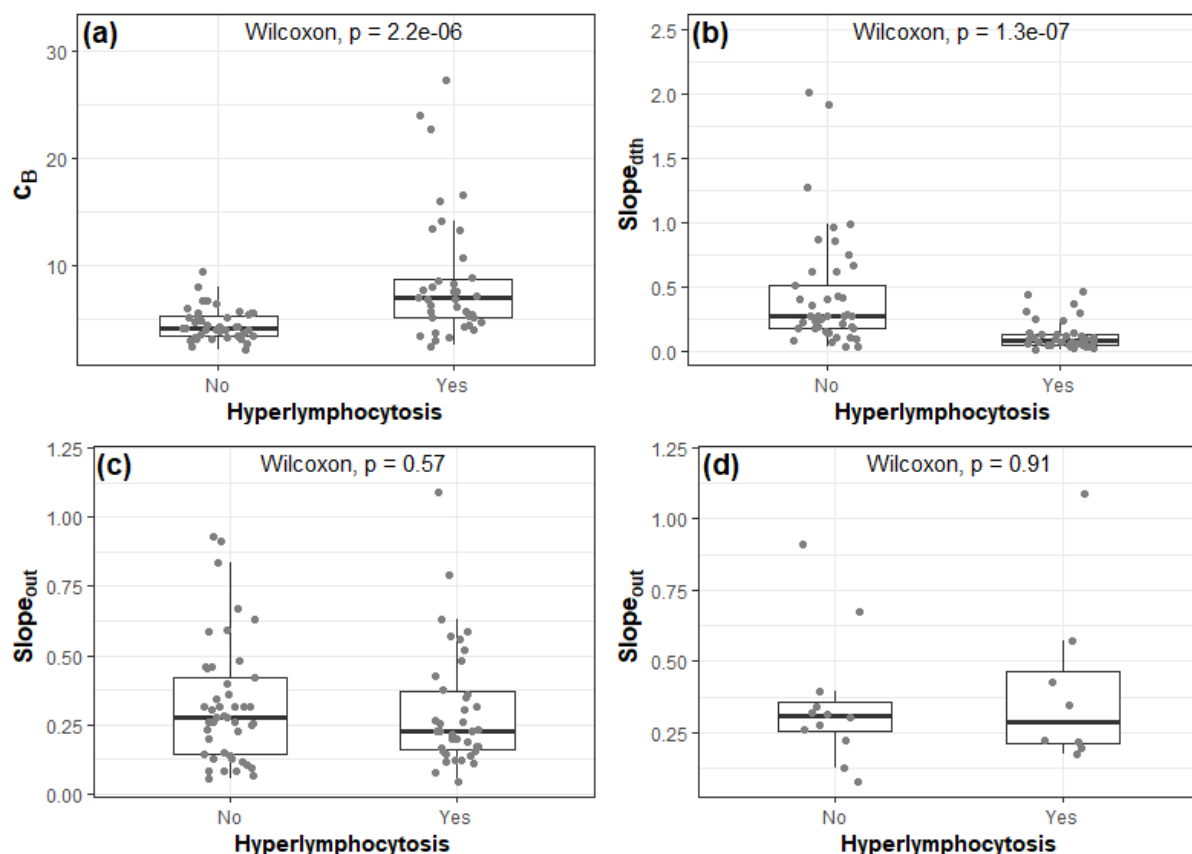


Figure 4 – PK-PD parameters versus group of hyperlymphocytosis. (a) Baseline ratio  $c_B = \frac{BASE_1}{BASE_2}$ , (b) Ibrutinib death effect  $Slope_{dth}$ , (c) Ibrutinib redistribution effect  $Slope_{out}$ , all patients ( $n=94$ ) and (d) Ibrutinib redistribution effect  $Slope_{out}$ , patients with pre and post ibrutinib observations ( $n=20$ ).

The association between PD posthoc parameters and disease progression was assessed in the PK-E3i cohort. The cohort included 77 CLL patients who were followed-up up to 4 years (median 2.8 years). At the end of follow-up, 46 patients were still under ibrutinib treatment, 14 dropped out due to disease progression and 17 dropped out for other reasons (severe toxicity ( $n=13$ ), death ( $n=1$ ), secondary cancer ( $n=2$ ) or refusal to participate ( $n=1$ )).  $BASE_1$  and  $BASE_2$  were found to be significantly lower in patients who had disease progression compared to those still under treatment (Figure 5). The median of  $BASE_1$  was 2.3-fold lower ( $p=0.022$ ) and the median of  $BASE_2$  was 3.1-fold lower ( $p=0.03$ ) in the

progression group. Secondly, we performed the same analysis using only early observations (up to one month after the beginning of the treatment). The posthoc estimates for  $BASE_1$  and  $BASE_2$  were similar and the same association between these parameters and disease progression was found (supplementary Figure S2). No differences were observed for the other PK-PD posthoc parameters. Finally, we compared the number of progressive disease cases between the HL groups as defined in the methods section independently from PD model parameters. A total of 23 patients out of 46 (50%) had HL in the no-progression group, and a total of 6 patients out of 14 (43%) had HL in the disease progression group. The association between HL and disease progression was not statistically significant ( $p=0.87$ ).

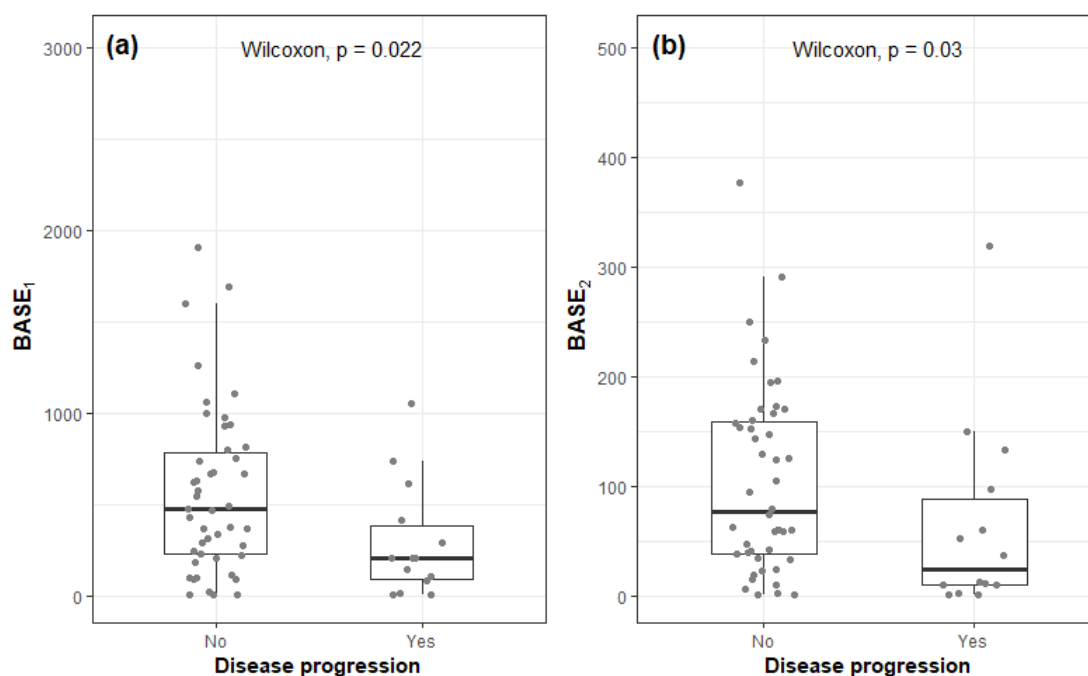
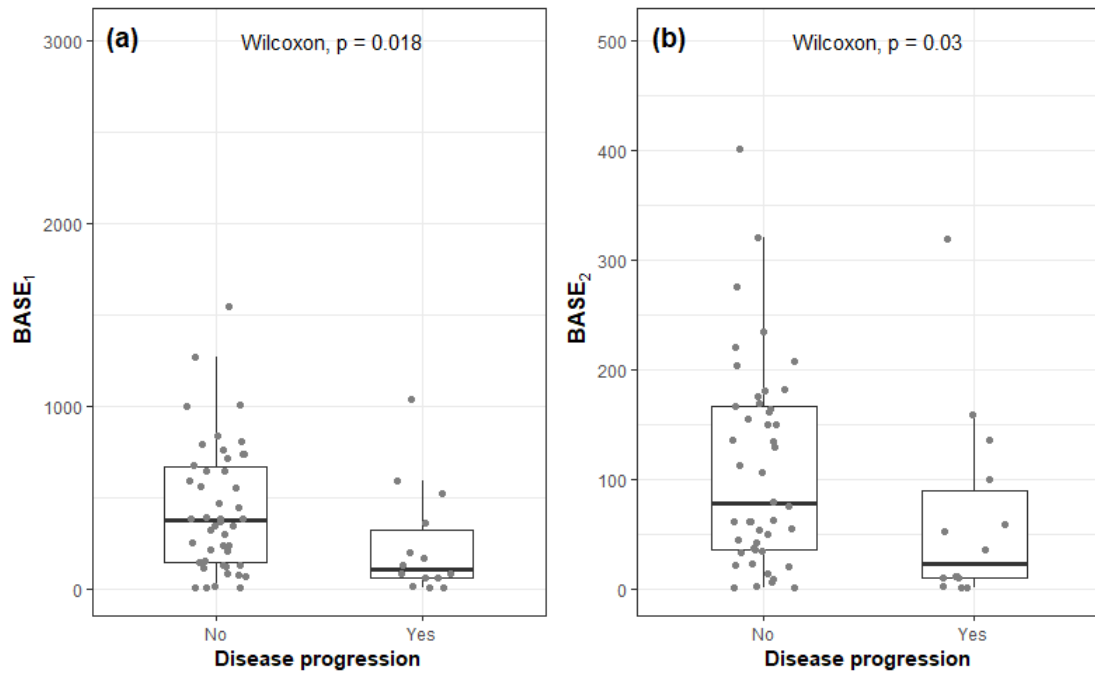


Figure 5 – Posthoc parameters  $BASE_1$  (a) and  $BASE_2$  (b) versus disease progression. A total of 46 patients did not have progression whereas 14 of them did.



Supplementary Figure S2: Posthoc parameters  $BASE_1$  (a) and  $BASE_2$  (b) versus disease progression obtained with the model parameters estimated on early ALC observations.

## 4 Discussion

The aim of this work was to develop a PK-PD model describing ALC dynamics under ibrutinib treatment. The final model had a structure comparable to that proposed by Wodarz et al. (22). We brought a new dimension to the model by taking into account the effect of ibrutinib PK and its variability between and within patients. A population approach was used, allowing the rigorous quantification of PD interindividual variability. In their model, Wodarz et al. estimated a CLL cells death rate in blood of  $0.027 \pm 0.01 \text{ days}^{-1}$  and a redistribution rate from lymph nodes to blood of  $0.008 \pm 0.005 \text{ days}^{-1}$  under ibrutinib treatment. In our model, the death rate and redistribution rate would be  $K_{ath}(1 + Slope_{ath} * C_{avg})$  and  $K_{out}(1 + Slope_{out} * C_{avg})$  respectively. The corresponding values were calculated using individual ibrutinib concentrations and PK-PD posthoc parameters. The death rate ranged from  $0.013 \text{ days}^{-1}$  to  $0.45 \text{ days}^{-1}$  and the redistribution rate ranged from  $0.005 \text{ days}^{-1}$  to  $0.076 \text{ days}^{-1}$ . These values are consistent with (22) although we found greater interindividual variability. We believe that the small number of patients included in (22) ( $n=10$ ) may have led to an underestimation of this variability on their part. For the first time, the effect of ibrutinib PK on lymphocyte dynamics was quantified by including a mean ibrutinib concentration for each individual at each hospital visit. Another model using ibrutinib plasmatic concentration calculated from mean PK parameters for all patients led to significantly worse adjustment of the data and higher PD parameters interindividual

variability. This result confirm the added value of using PK modeling to explain lymphocyte dynamics under ibrutinib treatment.

One of the limitations of our study, was that the 17 patients with pre-treatment observations, added to stabilize the model, did not have PK observations and some of them did not receive ibrutinib as first-line treatment. Moreover, we did not have any observations in the tissues compartment, unlike Wodarz et al. who used imaging data to estimate lymphocyte counts in lymph nodes. If such data were available, the lymphocyte counts in tissues could be more accurately estimated with another type of model and allow the addition of other pharmaco-physiological features such as homing and proliferation inhibition (17). However the aim of our model was not to estimate lymphocyte counts in tissues but to predict response to ibrutinib based only on circulating lymphocyte data. We further explored the impact of various prognosis covariates in the model. Tested covariates were not statistically significant even though some are known to be associated with different ALC profiles. For example, Burger et al. showed that CLL cells dynamics were different between patients with mutated and unmutated IGHV (14). However, covariate testing may have lacked statistical power as a substantial number of patients had missing covariates.

One of the main focus points in this work was the study of the ibrutinib-induced HL. Our model was able to describe the peak of lymphocytes in patients who had HL (Figure 3). We further explored the relationship between PK-PD parameters and HL. To do so, patients were divided according to HL, defined as a  $\geq 50\%$  increase in ALC compared to baseline and a number of cells greater than 5 G/L, based on clinical trials criteria (23,24). This criterion does not include any indication of time. In this work, the first ALC observation was recorded around one month after the baseline but patients may have had a  $>50\%$  increase before this time point. Indeed, Herman et al. showed that all ibrutinib treated CLL patients had transient HL to a higher or lesser degree (17). It was found that the association between the parameter  $c_B$  and HL was statistically significant, confirming that the ALC peak was mainly mathematically described through the difference between  $BASE_1$  and  $BASE_2$  values. This may not reflect physiological reality. Another interesting relationship was brought to light with a highly significant association between  $Slope_{dth}$  and HL. Patients without HL had higher death effect. This result confirms that the reduction of CLL tumor burden is either dependent on high redistribution rate from the tissues, or on a high death rate

We then explored the relationship between PK-PD posthoc parameters and CLL progression under ibrutinib treatment. Unexpectedly, patients who had disease progression had significantly lower estimated baseline lymphocyte counts in tissues ( $BASE_1$ ) and blood ( $BASE_2$ ). As an indication, our results seem to show that having an estimated value of  $BASE_1$  greater than 1000 and an estimated

value of  $BASE_2$  greater than 150 is associated with low risk of disease progression (Figure 5). This result may appear paradoxical but it should be emphasized that the estimated count  $BASE_1$  does not represent the actual amount of lymphocyte in the nodes. This estimate was obtained from the analysis of lymphocyte versus time profiles under ibrutinib treatment and seems to be a good predictor of efficacy. Furthermore, the same association was obtained when considering only early ALC observations (up to one month after the beginning of treatment) (supplementary Figure S2). Therefore, our model could be used to identify, at an early stage of treatment, the patients who are likely to have a poor response to ibrutinib, and thus help decision making regarding the strategy of treatment (e.g. use of another drug combined or not with ibrutinib). Finally, we did not find any association between disease progression and HL, as reported by others (18).

Another interesting analysis would be to explore the outbreak of ibrutinib resistant sub-clones. Acquired resistances to ibrutinib through BTK or PLCG2 mutations have been widely described (25,26). If such data were available, we could have adapted the model equations to describe cases of relapse and further explore the role of ibrutinib PK in these cases.

## 5 Conclusion

We present the first population PK-PD model describing lymphocyte dynamics under ibrutinib treatment. The final model was simple and allowed a good fit of the observed data for all profile types. Drug effects on lymphocyte redistribution and death were quantified and partly explained through ibrutinib plasmatic concentrations. Association between PK-PD parameters and HL showed that patients who did not have HL had higher lymphocyte death rate, confirming that CLL tumor burden is reduced either by major cell redistribution from tissues or by increased cell death. Estimated baseline lymphocyte counts in tissues and blood were significantly lower in patients who had disease progression under ibrutinib treatment. Our model may help identify, at an early stage of treatment, the patients who would be likely to have a durable response with single agent ibrutinib and those who might rather benefit from another treatment.

## 6 References

1. CLL European Report - Lymphoma Coalition [Internet]. [cited 2020 Jul 21]. Available from: <https://www.lymphomacoalition.org/lymphomas/lymphoma-subtypes/subtype-reports/ctl-european-report>
2. Hallek M. Chronic lymphocytic leukemia: 2020 update on diagnosis, risk stratification and treatment. *Am J Hematol*. 2019;94:1266–87.
3. Chronic Lymphocytic Leukemia - Cancer Stat Facts [Internet]. SEER. [cited 2020 Mar 30]. Available from: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/clyl.html>
4. Chen C, Puvvada S. Prognostic Factors for Chronic Lymphocytic Leukemia. *Curr Hematol Malig Rep*. 2016;11:37–42.
5. Pflug N, Bahlo J, Shanafelt TD, Eichhorst BF, Bergmann MA, Elter T, et al. Development of a comprehensive prognostic index for patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2014;124:49–62.
6. Weide R, Feiten S, Chakupurakal G, Friesenhahn V, Kleboth K, Köppler H, et al. Survival improvement of patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL) in routine care 1995-2017. *Leuk Lymphoma*. 2019;1–10.
7. Byrd JC, Furman RR, Coutre SE, Flinn IW, Burger JA, Blum KA, et al. Targeting BTK with ibrutinib in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 2013;369:32–42.
8. Cheng S, Ma J, Guo A, Lu P, Leonard JP, Coleman M, et al. BTK inhibition targets in vivo CLL proliferation through its effects on B-cell receptor signaling activity. *Leukemia*. 2014;28:649–57.
9. Stevenson FK, Krysov S, Davies AJ, Steele AJ, Packham G. B-cell receptor signaling in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2011;118:4313–20.
10. Woyach JA, Johnson AJ, Byrd JC. The B-cell receptor signaling pathway as a therapeutic target in CLL. *Blood*. 2012;120:1175–84.
11. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Döhner H, et al. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. *Blood*. 2018;131:2745–60.
12. Gruber M, Bozic I, Leshchiner I, Livitz D, Stevenson K, Rassenti L, et al. Growth dynamics in naturally progressing chronic lymphocytic leukaemia. *Nature*. Nature Publishing Group; 2019;570:474–9.
13. Ponader S, Chen S-S, Buggy JJ, Balakrishnan K, Gandhi V, Wierda WG, et al. The Bruton tyrosine kinase inhibitor PCI-32765 thwarts chronic lymphocytic leukemia cell survival and tissue homing in vitro and in vivo. *Blood*. 2012;119:1182–9.
14. Burger JA, Li KW, Keating MJ, Sivina M, Amer AM, Garg N, et al. Leukemia cell proliferation and death in chronic lymphocytic leukemia patients on therapy with the BTK inhibitor ibrutinib. *JCI Insight*. 2017;2:e89904.



15. de Rooij MFM, Kuil A, Geest CR, Eldering E, Chang BY, Buggy JJ, et al. The clinically active BTK inhibitor PCI-32765 targets B-cell receptor- and chemokine-controlled adhesion and migration in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2012;119:2590–4.
16. Barrientos JC, Burger JA, Byrd JC, Hillmen P, Zhou C, Ninomoto J, et al. Characterizing the kinetics of lymphocytosis in patients with chronic lymphocytic leukemia treated with single-agent ibrutinib. *Leuk Lymphoma*. 2019;60:1000–5.
17. Herman SEM, Niemann CU, Farooqui M, Jones J, Mustafa RZ, Lipsky A, et al. Ibrutinib-induced lymphocytosis in patients with chronic lymphocytic leukemia: correlative analyses from a phase II study. *Leukemia*. 2014;28:2188–96.
18. Woyach JA, Smucker K, Smith LL, Lozanski A, Zhong Y, Ruppert AS, et al. Prolonged lymphocytosis during ibrutinib therapy is associated with distinct molecular characteristics and does not indicate a suboptimal response to therapy. *Blood*. 2014;123:1810–7.
19. Byrd JC, Furman RR, Coutre SE, Burger JA, Blum KA, Coleman M, et al. Three-year follow-up of treatment-naïve and previously treated patients with CLL and SLL receiving single-agent ibrutinib. *Blood*. 2015;125:2497–506.
20. Marostica E, Sukbuntherng J, Loury D, de Jong J, de Trixhe XW, Vermeulen A, et al. Population pharmacokinetic model of ibrutinib, a Bruton tyrosine kinase inhibitor, in patients with B cell malignancies. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2015;75:111–21.
21. Gallais F, Ysebaert L, Despas F, De Barros S, Dupré L, Quillet-Mary A, et al. Population Pharmacokinetics of Ibrutinib and Its Dihydrodiol Metabolite in Patients with Lymphoid Malignancies. *Clin Pharmacokinet*. 2020;59:1171–83.
22. Wodarz D, Garg N, Komarova NL, Benjamini O, Keating MJ, Wierda WG, et al. Kinetics of CLL cells in tissues and blood during therapy with the BTK inhibitor ibrutinib. *Blood*. 2014;123:4132–5.
23. Munir T, Brown JR, O'Brien S, Barrientos JC, Barr PM, Reddy NM, et al. Final analysis from RESONATE: Up to six years of follow-up on ibrutinib in patients with previously treated chronic lymphocytic leukemia or small lymphocytic lymphoma. *Am J Hematol*. 2019;94:1353–63.
24. Burger JA, Barr PM, Robak T, Owen C, Ghia P, Tedeschi A, et al. Long-term efficacy and safety of first-line ibrutinib treatment for patients with CLL/SLL: 5 years of follow-up from the phase 3 RESONATE-2 study. *Leukemia*. 2019;
25. Chiron D, Di Liberto M, Martin P, Huang X, Sharman J, Bleuca P, et al. Cell-cycle reprogramming for PI3K inhibition overrides a relapse-specific C481S BTK mutation revealed by longitudinal functional genomics in mantle cell lymphoma. *Cancer Discov*. 2014;4:1022–35.
26. Woyach JA, Ruppert AS, Guinn D, Lehman A, Blachly JS, Lozanski A, et al. BTKC481S-Mediated Resistance to Ibrutinib in Chronic Lymphocytic Leukemia. *J Clin Oncol*. 2017;35:1437–43.

## 2.5 Discussion

Ces travaux avaient pour but d'étudier l'ibrutinib par une approche de modélisation mathématique. Deux modèles ont été développés, le premier pour décrire la pharmacocinétique et le second pour décrire la dynamique des lymphocytes circulants chez des patients atteints de LLC traités par ibrutinib.

Dans la première partie, nous avons présenté un nouveau modèle pharmacocinétique de population pour l'ibrutinib. La structure du modèle final pour cette molécule est en accord avec celle précédemment publiée par Marostica et al. (86). Nous avons apporté une dimension supplémentaire à ces travaux puisque notre modèle inclut également les concentrations de dihydrodiol-ibrutinib et permet de décrire l'effet de premier passage hépatique. Nous n'avons pas identifié de covariables ayant un impact cliniquement significatif sur les paramètres pharmacocinétiques de l'ibrutinib et avons donc retenu un modèle sans covariables. L'importante variabilité des concentrations entre les différents patients reste donc inexpliquée. Nous avons tout de même confirmé qu'il existait bien un lien entre le polymorphisme du CYP3A4 et l'exposition au médicament (105,106). Le modèle final a été validé, à la fois sur des critères d'évaluation interne et externe. Nous avons montré que les patients qui sont sortis prématurément de l'étude PK-E3i du fait de l'arrêt de leur traitement pour cause de toxicité avaient une AUC de l'ibrutinib plus importante ( $p=0.048$ ). En revanche, dans le cas de la LLC, l'exposition est la même entre les patients toujours suivis à un an et ceux sortis prématurément de l'étude pour cause de progression. Cette observation suggère que la dose d'ibrutinib administrée est supérieure à la dose nécessaire pour atteindre l'efficacité. Une diminution de la dose pourrait être envisagée comme cela a été suggéré par Chen et al. (132). Parmi les quelques patients atteints de LCM ( $n=7$ ), nous avons observé une tendance de sous-exposition chez les patients ayant progressé. Il serait intéressant d'explorer cette piste afin de déterminer s'il existe une relation entre PK de l'ibrutinib et efficacité pour le traitement du LCM. Les résultats du modèle nous ont également permis de discuter de l'intérêt de la mise en place d'un suivi thérapeutique pharmacologique (STP) pour l'ibrutinib. Certains arguments sont en faveur du STP : stabilité du médicament, association entre PK et toxicité, aucune covariable permettant de réduire la variabilité interindividuelle a priori n'a été identifiée. En revanche, l'importante variabilité intra-individuelle est un élément qui est plutôt en défaveur de la mise en place d'un STP.

Nous nous sommes ensuite servis de ce modèle PK pour construire un modèle PK-PD décrivant l'évolution des lymphocytes circulants sous ibrutinib chez des patients atteints de LLC. Pour cela, nous avons utilisé le modèle PK pour calculer une concentration d'ibrutinib moyenne à l'équilibre pour chaque patient, à partir de leurs paramètres PK individuels. Le modèle PK-PD a été développé en se

basant sur les connaissances physiologiques du comportement des lymphocytes. Le modèle final était concordant avec celui proposé par Wodarz et al. (211). Il était composé de deux compartiments, un représentant les ganglions lymphatiques et les tissus, et l'autre la circulation sanguine. Les lymphocytes prolifèrent dans les ganglions lymphatiques puis sont relâchés dans la circulation sanguine où ils finissent par mourir. Nos données ne nous ont pas permis de décrire la mort des lymphocytes dans les ganglions ni le phénomène de homing. L'effet de la pharmacocinétique a été inclus à deux endroits : stimulation du relargage des lymphocytes depuis les ganglions vers la circulation, et stimulation de la mort des lymphocytes circulants. L'effet du médicament sur la diminution de la prolifération des lymphocytes n'a pas pu être décrit. Enfin, si le homing avait été intégré au modèle, l'effet de l'ibrutinib sur l'inhibition de ce dernier aurait pu être testé. Afin d'arriver à quantifier correctement l'effet de la PK sur les lymphocytes, nous avons dû ajouter des données observées avant l'initiation du traitement. Ainsi, le modèle décrit l'augmentation du taux de lymphocytes circulants précédant le traitement, puis les effets de l'ibrutinib une fois que ce dernier débute. Nous proposons pour la première fois un modèle permettant de décrire ce comportement. Le modèle obtenu montre un bon ajustement aux données. Pour le rendre plus robuste et précis, il aurait idéalement fallu disposer d'observations de taux de lymphocytes avant et pendant le traitement, ainsi que des données pharmacocinétiques pour tous les patients. La quantification du nombre de lymphocytes dans les ganglions aurait également permis d'alimenter le modèle et de préciser les estimations liées au compartiment 1 (celui représentant les ganglions lymphatiques). Ce dernier manque pourra être en partie comblé par l'étude COMPUTREAT qui devrait livrer des données d'imagerie dans les ganglions, permettant d'estimer le nombre de lymphocytes dans ce compartiment (211). Ce modèle a permis de mettre en évidence deux groupes de patients : ceux pour lesquels l'effet de l'ibrutinib se traduit principalement par le relargage des lymphocytes stockés dans les ganglions (lymphocytose) et, à l'opposé, ceux pour lesquels l'effet est plus important sur la mort de ces lymphocytes circulants. Enfin, nous avons mis en évidence que les patients ayant vu leur maladie progresser rapidement (durant les 2 premières années de traitement) avaient des taux basaux de lymphocytes plus bas dans les deux compartiments.

Pour conclure, ces travaux ont permis d'étudier la pharmacocinétique et un aspect de la pharmacodynamie de l'ibrutinib. L'approche de population a été utilisée et a permis la quantification de la variabilité interindividuelle PK et PK-PD. Les modèles qui ont été développés ont permis d'obtenir des informations sur l'impact de la PK de l'ibrutinib sur la clinique. Ils seront réutilisés pour d'autres analyses au fur et à mesure que les données des études cliniques PK-E3i et COMPUTREAT seront disponibles.

## 3 Analyse pharmacocinétique de l'idelalisib

### 3.1 Introduction

L'idelalisib est un médicament qui a été approuvé en 2014. Il est indiqué en association avec le rituximab pour le traitement de la LLC et en monothérapie pour le traitement du lymphome folliculaire et autres lymphomes, principalement pour des patients réfractaires ou en rechute après plusieurs lignes de traitement (166,167). L'idelalisib est un inhibiteur sélectif de la phosphoinositide 3-kinase  $\delta$ . La PI3K $\delta$  est impliquée dans de multiples voies de signalisation qui sont à l'origine de la prolifération, la survie, la migration et la rétention des cellules tumorales dans les tissus lymphoïdes et la moelle osseuse. Elle joue un rôle central dans les hémopathies malignes à cellules B (156). Durant les essais cliniques, l'idelalisib a montré des taux de réponse importants avec 81% de réponse pour les patients atteints de LLC et 57% pour les patients atteints de lymphome (166,167). La médiane de survie sans progression associée au traitement par idelalisib est de l'ordre de deux ans pour la LLC, et d'environ un an pour les lymphomes. Néanmoins, le recours à l'idelalisib a diminué durant les dernières années, suite à des données de pharmacovigilance faisant état d'une augmentation de la mortalité, principalement en raison d'infections (pneumonies à *Pneumocystis jirovecii* et infections à cytomégalovirus), et à la survenue d'événements indésirables graves durant les six premiers mois de traitement (212,213).

Dans l'étude PK-E3i, la cohorte idelalisib était constituée de patients traités en monothérapie ou en association avec du rituximab, pour une LLC ou pour un LF. La LLC est la leucémie la plus fréquente chez l'adulte. Elle se caractérise par la prolifération et l'accumulation de lymphocytes B anormaux. Le LF se classe parmi les lymphomes non Hodgkinien les plus fréquents avec 20 à 30% des cas (214,215). Il se caractérise par la transformation maligne de lymphocytes B des centres germinatifs. L'étude PK-E3i avait pour but d'étudier la pharmacocinétique de l'idelalisib, son objectif principal étant d'analyser la relation entre pharmacocinétique et survenue d'effets indésirables. L'idelalisib est un médicament administré oralement. Il est principalement métabolisé par l'aldéhyde oxydase et dans une moindre mesure par le CYP3A et l'UGT1A4. Son seul métabolite circulant, GS-563117, n'est pas actif. Jin et al. ont proposé un premier modèle pharmacocinétique de l'idelalisib développé à partir des données issues de différents essais cliniques incluant des volontaires sains ou des patients (160). Le but de ces travaux était de développer un nouveau modèle pharmacocinétique de population à partir des données obtenues dans l'étude PK-E3i et d'évaluer l'impact de différentes covariables sur la pharmacocinétique de l'idelalisib.

## 3.2 Matériel et méthodes

### 3.2.1 *Patients et données*

Les patients étudiés correspondent au groupe idelalisib de l'étude PK-E3i. Il s'agissait de patients atteints de LF ou de LLC débutant un traitement par idelalisib. Le suivi prévu par l'étude était de deux ans avec des visites hospitalières prévues à 1, 2, 3, 6, 12, 18 et 24 mois (M1 à M24) après l'inclusion. Un examen biologique et clinique était effectué à chaque visite. Des prélèvements sanguins destinés à l'analyse pharmacocinétique étaient réalisés aux visites M1, M2, M3, M6 et M12. Lors de la visite M1, une cinétique complète était déterminée avec six prélèvements sanguins: avant administration puis 0.5, 1, 2, 4 et 6 heures après administration. Aux visites M2 à M12, un seul prélèvement était réalisé avant une nouvelle administration du médicament, pour obtenir des concentrations résiduelles.

### 3.2.2 *Dosage des échantillons plasmatiques*

Nous avons dosé les échantillons sanguins récoltés durant l'étude au laboratoire de pharmacologie. De façon similaire à la méthode développée pour l'ibrutinib, la technique de dosage repose sur de l'UHPLC-MS/MS et a été développée de façon à pouvoir doser simultanément six inhibiteurs de tyrosine kinase (afatinib, cabozantinib, cobimetinib, idelalisib, ponatinib et vemurafenib) et un métabolite (N-desméthyl ponatinib). Ce dosage met en œuvre une technique d'extraction par précipitation. La séparation est réalisée par un système d'UHPLC en phase inverse suivie d'une détection en spectrométrie de masse de type triple quadripôle utilisé en mode MRM. Cette méthode de dosage est utilisée régulièrement au laboratoire de pharmacologie dans le cadre d'analyses de routine hospitalière et a été certifiée par le COFRAC.

Les échantillons sanguins reçus au laboratoire sont centrifugés (1400 g, température ambiante, 10 minutes) puis le plasma est aliquoté et stocké à une température de -20 °C jusqu'au moment de l'analyse. Le jour de l'analyse, une gamme de calibration est préparée à partir des solutions mères de concentration 1 mg/mL de chacune des molécules incluses dans le dosage. Les molécules ont été réparties en quatre groupes de différentes portées de gamme en fonction des concentrations maximales et résiduelles observées en clinique :

- Groupe A : portée de gamme allant de 0.61 à 500 ng/mL (afatinib, ponatinib, N-desméthyl ponatinib)
- Groupe B1 : portée gamme allant de 1.2 à 10 000 ng/mL (idelalisib)
- Groupe B2 : portée gamme allant de 4.88 à 10 000 ng/mL (cabozantinib, cobimetinib)
- Groupe C : portée gamme allant de 9.7 à 100 000 ng/mL (vemurafenib)

La solution permettant l'extraction par précipitation se compose des solutions d'étalon interne et d'acétonitrile. Dans le cas de l'idelalisib, l'étalon interne utilisé est la molécule deutérée [ $^2H_5$ ]-Idelalisib.

Les différentes étapes de préparation des échantillons de patients sont décrites ci-après. Dans un tube à hémolyse, 250  $\mu$ L de l'échantillon plasmatique sont additionnés de 1250  $\mu$ L de la solution de précipitation. Les tubes sont vortexés deux fois, d'abord pendant 5 minutes puis pendant 1 minute. Ils sont ensuite centrifugés à 1500 g et à 4 °C pendant 10 minutes. A la suite de la centrifugation, 900  $\mu$ L de phase organique sont prélevés, puis les tubes sont évaporés à 37 °C sous flux d'air doux. Enfin, les extraits secs sont repris dans 150  $\mu$ L de méthanol. L'ensemble est alors filtré à l'aide d'une seringue à insuline et d'un filtre minispire 0.20  $\mu$ m dans un vial (Waters) pour analyse.

De la même façon que pour l'ibrutinib, trois types de CQI (bas, moyen et haut) ont été préparés et testés durant cinq dosages pour chaque molécule. Leur coefficient de variation était inférieur à 15%, assurant la répétabilité et la reproductivité de la méthode. Le jour de l'analyse, les CQIs sont extraits en suivant le même mode opératoire que celui employé pour les échantillons de patients. Les critères de validation sont les suivants : les concentrations obtenues pour les CQIs doivent correspondre à celles attendues, avec une tolérance de 20% pour le CQI bas et de 15% pour les CQIs moyen et haut. Pour l'idelalisib, les CQIs bas, moyen et haut correspondent aux concentrations de 4, 1000 et 80000 ng/mL, respectivement.

La séparation chromatographique est menée sur une colonne apolaire (Acquity UPLC BEH C18), en phase liquide avec un débit de 0.4 mL/min et à une température de 30 °C. La phase mobile est initialement composée de 95% de phase A (formate d'ammonium à 5 mM et pH 3.2) et 5% de phase B (99.9 % d'acétonitrile et 0.1 % d'acide formique). Le gradient est ensuite le suivant (% phase A - % phase B): 85% - 15%, 63% - 37%, 5% - 95% et retour à 95% - 5%. Cinq  $\mu$ L d'échantillon sont injectés dans la colonne de chromatographie pour un temps d'analyse de six minutes. Les conditions d'expérimentation sont similaires à celles utilisées pour le dosage de l'ibrutinib. La température de la source est de 600 °C, celle du gaz de désolvatation de 1100 °C. Les débits de gaz au niveau du cône sont de 150 L/h, et pour les gaz de désolvatation (azote) et de collision (argon) ils sont respectivement de 1100 L/h et 0.4 mL/min. Le voltage du capillaire est de 3.5 kV. La tension de cône de base est de 20 V et l'énergie de collision de base à 3 V. L'acquisition est réalisée en mode MRM. Les transitions associées à l'idelalisib sont 416  $\rightarrow$  76 m/z et 416  $\rightarrow$  148 m/z.

### 3.2.3 Développement du modèle pharmacocinétique de population

Les données de concentrations plasmatiques d'idelalisib ont été analysées par une approche de population. Différents modèles de structures ont été testés. La variabilité interindividuelle a été

implémentée sur l'échelle log-normale. L'ajout de termes de covariance non-nuls dans la matrice de variance-covariance  $\Omega$  a été évalué, afin de tenir compte de la corrélation entre les différents paramètres pharmacocinétiques de clairances et de volumes. En effet, ces paramètres sont tous apparents et dépendent donc de la biodisponibilité  $F$ . L'ajout d'une variabilité inter-occasion a été testé pour prendre en compte les différences possibles entre les différentes visites hospitalières. Le modèle d'erreur résiduelle était de type proportionnel. L'analyse de l'effet des covariables disponibles sur les différents paramètres pharmacocinétiques a été menée selon l'approche décrite précédemment. Les covariables ont été ajoutées au modèle une à une et un seuil statistique de 0.05 a été utilisé pour sélectionner les covariables d'intérêt. L'ensemble des covariables sélectionnées étaient incluses dans le modèle puis retirées une à une et ce retrait était comparé au seuil statistique de 0.01. Les covariables continues étaient implémentées sous la forme d'une relation de type puissance et les covariables catégorielles sous forme multiplicative, avec un niveau de référence. L'évaluation des modèles était basée sur la différence de fonction objective, les graphiques diagnostics, la variabilité résiduelle et la précision des estimations. Le modèle a été développé à l'aide du logiciel NONMEM version 7.4.1 (ICON Development Solutions, Ellicott City, MD, USA) avec la méthode d'estimation FOCE-I.

### 3.3 Résultats

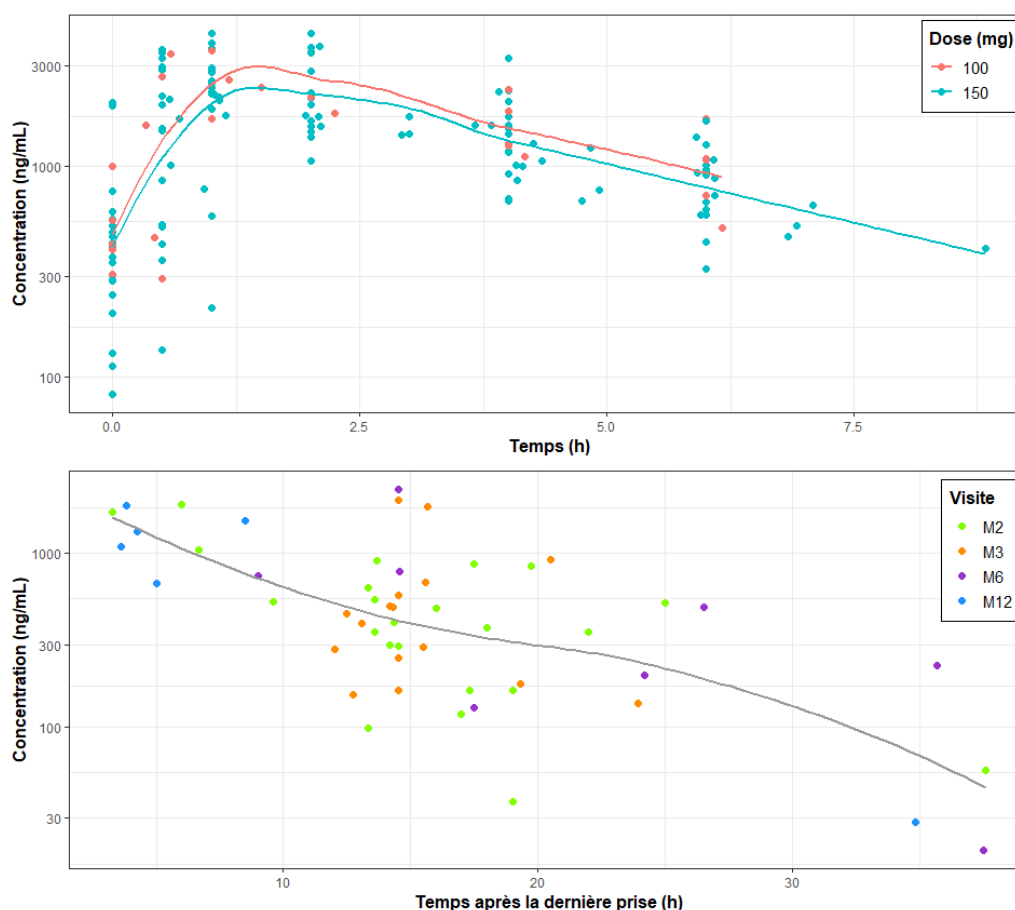
Au total, 27 patients traités par idelalisib pour une LLC ou un LF ont été inclus dans l'étude PK-E3i. Parmi eux, seuls 26 patients ont réalisé la première visite de suivi M1 et ont pu être inclus dans l'analyse pharmacocinétique de population. Les caractéristiques de ces patients à l'inclusion sont rapportées dans la Table 1. Concernant les visites hospitalières suivantes, seuls 23, 16, 8 et 6 patients ont réalisé les visites M2, M3, M6 et M12 respectivement. Cette décroissance du nombre de patients suivis s'explique par la sortie prématurée de l'étude pour la majorité des patients. Parmi les 21 patients qui sont sortis d'étude avant la fin de la première année de suivi, 10 (48%) ont arrêté leur traitement pour cause d'effet indésirable, 7 (33%) ont arrêté leur traitement pour cause de rechute ou de progression, et 4 (19%) sont décédés. La posologie initiale d'idelalisib était de 150 mg BID ( $n=21$ , 78%), 100 mg BID ( $n=5$ , 18.5%) ou 150 mg une fois par jour (QD) ( $n=1$ , 3.5%). Dans la suite de l'étude, certains patients ont vu leur dose réduite pour cause de toxicité. Au total, 207 concentrations plasmatiques d'idelalisib ont été obtenues. Les concentrations observées aux différentes visites sont représentées en Figure 17. A la visite M1, les concentrations observées chez les patients recevant une dose de 100 mg sont similaires à celles des patients recevant 150 mg ( $p=0.52$ ).

**Table 1 – Caractéristiques des patients idelalisib à l'inclusion (n=26)**

<b>Caractéristique</b>	<b>Moyenne ± écart type [range] Ou Nombre (%)</b>	<b>Caractéristique</b>	<b>Moyenne ± écart type [range] Ou Nombre (%)</b>
<b>Pathologie</b> <b>LLC</b> <b>LF</b>	14 (54%) 12 (46%)	<b>Hémoglobine (g/dL)</b>	11 ± 2.1 [6.8-15.1]
<b>Sexe</b> <b>Homme</b> <b>Femme</b>	11 (42%) 15 (58%)	<b>Lymphocytes T CD4<sup>+</sup> (/mm<sup>3</sup>)</b>	563.7 ± 310.8 [68-1445]
<b>Age (années)</b>	68.5 ± 11.7 [37-83.5]	<b>Lymphocytes T CD8<sup>+</sup> (/mm<sup>3</sup>)</b>	561 ± 455.6 [80-2350]
<b>Taille (cm)</b>	167.5 ± 10.4 [146-189]	<b>Clairance de la créatinine (mL/min)</b>	61 ± 15.6 [18-81]
<b>Poids (kg)</b>	73.2 ± 14.4 [45-100]	<b>Bilirubine totale (μmol/L)</b>	8.6 ± 3.8 [3-19]
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	26 ± 4.3 [18.2-34.6]	<b>GGT (g/L)</b>	8 ± 7 [1.8-28.6]
<b>BSA (m<sup>2</sup>)</b>	1.8 ± 0.2 [1.3-2.2]	<b>LDH (UI/L)</b>	236.9 ± 77.5 [104-469]
<b>Lymphocytes (G/L)</b>	39.3 ± 80 [0.4-276.9]	<b>ALAT (UI/L)</b>	27 ± 19.9 [9-110]
<b>Neutrophiles (G/L)</b>	4.1 ± 1.9 [0.5-10.5]	<b>ASAT (UI/L)</b>	23.9 ± 9.5 [11-45]
<b>Plaquettes (G/L)</b>	121.7 ± 59.9 [17-247]		

LLC : leucémie lymphoïde chronique, LF : lymphome folliculaire, IMC : indice de masse corporelle, BSA : surface corporelle, GGT: Gamma-Glutamyl transpeptidase, LDH: lactate déshydrogénase, ALAT: alanine aminotransférase, ASAT: aspartate aminotransférase

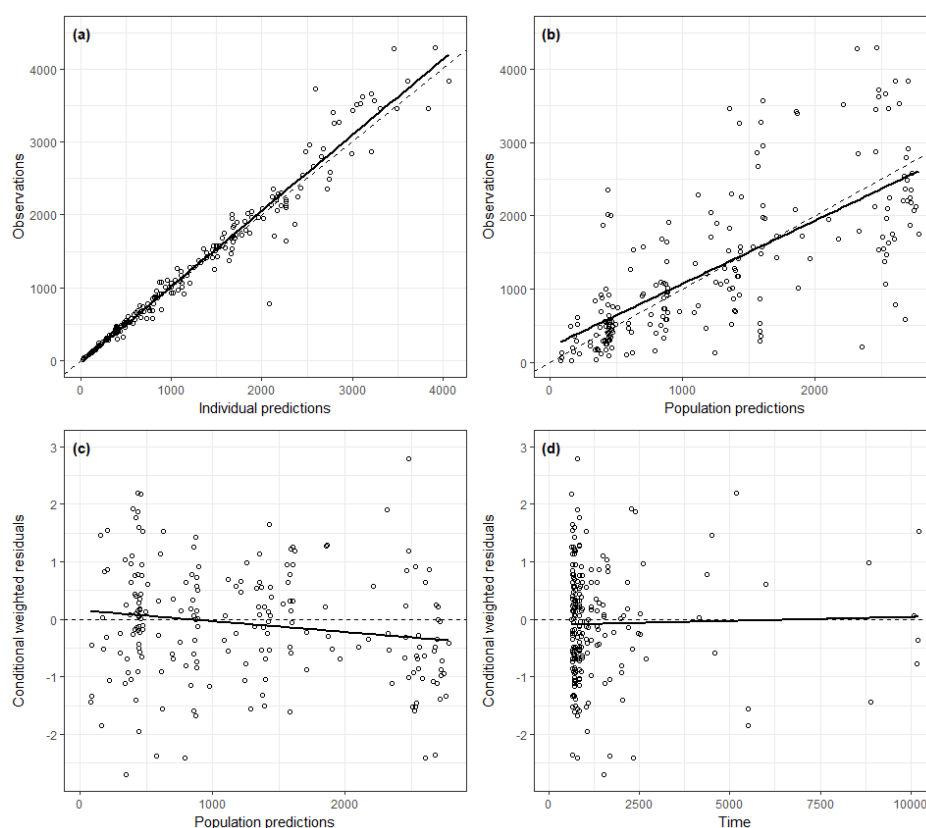




**Figure 17 – Concentrations plasmatiques d’idelalisib observées aux différentes visites**  
*Panneau supérieur : visite M1 - cinétique complète (6 prélèvements), panneau inférieur : visites M2 à M12 – concentrations résiduelles.*

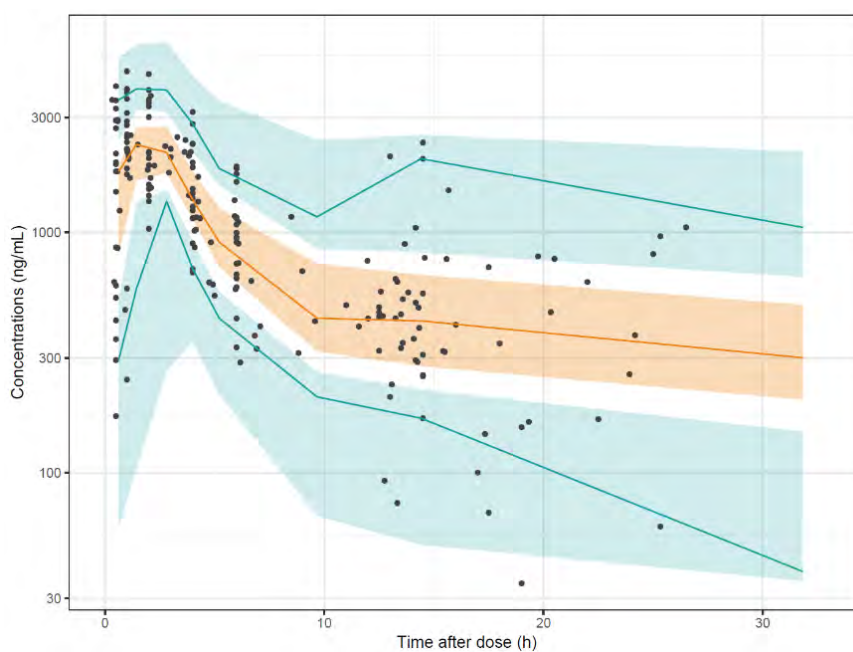
Le modèle pharmacocinétique de population final est un modèle comprenant un compartiment de dépôt et deux compartiments de distribution, avec une élimination linéaire à partir du compartiment central ( $CL$ ). L’absorption est caractérisée par un processus d’ordre 1 ( $k_a$ ) qui débute après un temps de latence ( $ALAG_1$ ). Une variabilité interindividuelle a été estimée sur la clairance d’élimination, la clairance inter-compartimentale ( $Q$ ), le volume du compartiment central ( $V_2$ ) et le temps de latence. L’ajout de termes de covariance entre  $CL$ ,  $Q$  et  $V_2$  n’a pas permis d’améliorer significativement le modèle. En revanche, l’ajout d’une variabilité inter-occasion sur  $CL$  a permis d’améliorer significativement la qualité du modèle. Nous avons également tenté de modéliser une absorption saturable puisque c’est un phénomène qui a été décrit pour l’idelalisib. En se basant sur les résultats obtenus par Jin et al. (160), une biodisponibilité relative ( $F$ ) dépendant de la dose administrée a été introduite dans le modèle avec la relation suivante :  $F = \exp(\theta_F \cdot \log(\frac{dose}{150}))$  où  $\theta_F$  est un coefficient négatif. Ainsi, la biodisponibilité décroît lorsque la dose augmente et elle vaut 1 à la dose référence de 150 mg. La prise en compte de cette relation a permis d’améliorer significativement le modèle (dOFV=-

9.6). D'autres façons de modéliser l'absorption saturable ont été testées (absorption de type Michaelis-Menten, relation  $F = \exp(\theta_F * dose)$ ), mais celles-ci n'ont pas permis d'améliorer l'ajustement du modèle aux données. L'ensemble des covariables présentées dans la Table 1 ont été testées sur la clairance d'élimination. Aucune covariable n'était associée à une baisse significative de la fonction objective et de la variabilité interindividuelle. Le modèle final est donc le modèle de base n'incluant aucune covariable. La variabilité résiduelle du modèle final était de 17%. Les graphiques diagnostics et VPC du modèle final sont présentés en Figure 18 et Figure 19 respectivement. Les estimations des paramètres sont données dans la Table 2.



**Figure 18 – Graphiques diagnostics du modèle pharmacocinétique de l'idelalisib**

*Observations versus prédictions individuelles (a) ou de population (b) ; points : observations, ligne continue : régression linéaire, ligne pointillée : droite identité. Résidus conditionnels pondérés (CWRES) versus prédictions de population (c) et temps (d) ; points : observations, ligne continue : régression linéaire, ligne pointillée : droite d'équation  $y=0$*



**Figure 19 – VPC du modèle final de l'idelalisib**

*Points : observations, surfaces bleues : intervalles à 90% du 5ème et du 95ème percentile des données simulées, surface orange : intervalle à 90% du 50ème percentile des données simulées, lignes : 5ème, 50ème et 95ème percentile des observations*

**Table 2 - Estimations des paramètres pharmacocinétiques de l'idelalisib**

Paramètre (unité)	Estimation (RSE) [Shrinkage]
$ALAG_1$ (h)	0.28 (42%)
$\omega_{ALAG_1}$ (CV, %)	143% (47%) [49%]
$k_a$ ( $h^{-1}$ )	0.48 (11%)
$CL/F$ (L/h)	10.6 (10%)
$\omega_{CL}$ (CV, %)	28% (48%) [28%]
$IOV_{CL}$ (CV, %)	39% (11%) [38%]
$V_2/F$ (L)	10.7 (30%)
$\omega_{V_2}$ (CV, %)	100% (18%) [13%]
$V_3/F$ (L)	110 (20%)
$Q/F$ (L/h)	8.1 (18%)
$\omega_Q$ (CV, %)	56% (40%) [13%]
$F = \exp(\theta_F \cdot \log(\frac{dose}{150}))$	
$\theta_F$	-0.94 (74%)
Variabilité résiduelle proportionnelle $\sigma$ (CV, %)	17% (8%)

$ALAG_1$  : temps de latence,  $k_a$  : constante d'absorption,  $F$  : biodisponibilité,  $CL/F$  : clairance apparente,  $V_2/F$  : volume apparent du compartiment central,  $V_3/F$  : volume apparent du compartiment périphérique,  $Q/F$  : clairance intercompartimentale apparente,  $\omega$  : variabilité interindividuelle,  $IOV$  : variabilité inter-occasion,  $\sigma$  : variabilité résiduelle, CV: coefficient de variation, RSE: residual standard error

### 3.4 Discussion

Les données récoltées durant l'étude PK-E3i ont permis de développer un modèle pharmacocinétique de l'idelalisib chez des patients atteints de LLC ou de LF. Le modèle final comporte deux compartiments, avec une absorption et une élimination linéaires et un temps de latence précédant l'absorption. La biodisponibilité décroît lorsque la dose augmente. Cette structure est la même que celle obtenue par Jin et al. sur les données des essais cliniques (160). Les estimations que nous avons obtenues sont proches des valeurs publiées par Jin et al. La clairance estimée dans notre population est légèrement plus faible avec 10.6 L/h versus 14.9 L/h. Comme suggéré par Jin et al., les concentrations d'idelalisib semblent augmenter de façon non-proportionnelle à la dose. Dans la Figure 17, on peut voir qu'à la visite M1 les concentrations plasmatiques d'idelalisib sont similaires entre les

patients recevant 100 ou 150 mg. De plus, l'ajout d'une relation entre la dose et la biodisponibilité a permis d'améliorer le modèle. Le coefficient  $\theta_F$  associé à cette relation est estimé à -0.94 dans notre population versus -0.26 dans la publication de Jin et al. Les concentrations analysées dans leur étude reposaient sur un large spectre de dose variant de 17 mg à 400 mg, correspondant aux différents paliers testés durant les études de phases I et II. Les données analysées ici comportaient seulement 26 patients recevant principalement les doses de 100 mg ou 150 mg, ce qui rend obligatoirement la caractérisation de  $\theta_F$  moins précise. Cela se reflète d'ailleurs dans la RSE de 74% associée à ce paramètre. Par ailleurs, Jin et al. ont identifié deux covariables influençant la clairance de l'idelalisib. La première n'est pas applicable ici puisqu'il s'agissait de différencier les patients des volontaires sains. La seconde était l'effet du poids sur la clairance, avec une clairance qui augmente quand le poids augmente. Néanmoins, même si l'effet a été retenu dans leur modèle, les auteurs ont jugé que son impact sur l'exposition au médicament ne nécessitait pas de recommander un ajustement de la dose en fonction du poids. Cet effet n'a pas été retrouvé dans notre population. La précision d'estimation des paramètres et l'évaluation de l'effet des covariables ont été fortement impactés par le petit nombre de patients analysés. En effet l'étude prévoyait au départ d'inclure 57 patients traités par idelalisib avec un total de 10 prélèvements sanguins par patient destinés à l'étude de la pharmacocinétique. Suite à la mise en évidence du risque important d'infection et de la survenue d'effets indésirables graves, le recours à la prescription d'idelalisib a fortement diminué, laissant place à de nouvelles molécules récemment apparues sur le marché et mieux tolérées. Ainsi seulement 27 patients ont été inclus dans l'étude et la majorité d'entre eux en sont sortis prématurément. Finalement, seulement 207 concentrations au lieu des 570 attendues ont pu être récoltées pour l'analyse pharmacocinétique. Néanmoins, le modèle obtenu avec ces données concorde avec celui qui a été précédemment publié. Les graphiques diagnostics et les VPCs du modèle sont très satisfaisants, et la variabilité résiduelle n'est que de 17%, renforçant la fiabilité du modèle. Celui-ci pourra être utilisé par la suite pour établir des corrélations entre la pharmacocinétique de l'idelalisib et la survenue d'effets indésirables graves, et ainsi répondre à l'objectif principal de l'étude PK-E3i.

### 3.5 Conclusion

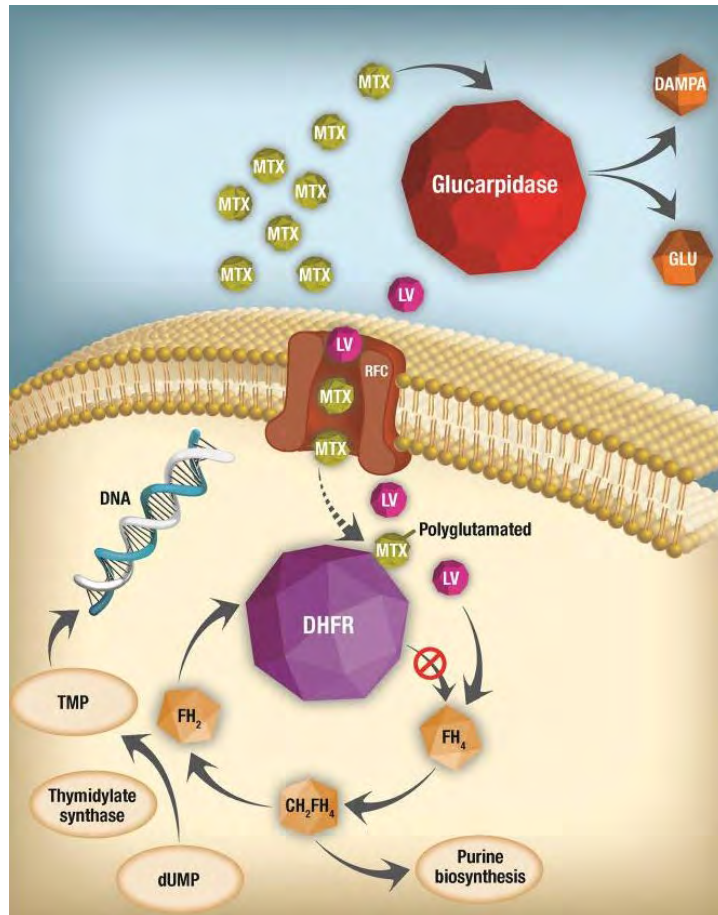
Les données de l'étude PK-E3i ont permis de développer un modèle pharmacocinétique de population de l'idelalisib chez les patients atteints de LLC ou de LF. Même si le volume de données à analyser était inférieur à celui prévu dans le protocole de l'étude, le modèle obtenu est en concordance avec les résultats précédemment publiés dans la littérature. Il pourra être utilisé pour étudier la relation entre la pharmacocinétique de l'idelalisib et la survenue d'effets indésirables.

## 4 Travaux additionnels : Analyse pharmacocinétique des données de suivi thérapeutique pharmacologique de méthotrexate pour des protocoles de haute dose en oncohématologie

### 4.1 Introduction

Le méthotrexate (MTX) est un antimétabolite antagoniste de l'acide folique. Il s'agit d'un agent antinéoplasique et immunosuppresseur qui est aujourd'hui utilisé dans le traitement de nombreuses pathologies. L'aminoptérine, molécule analogue du méthotrexate considérée comme son précurseur, a d'abord été introduite à la fin des années 40 par Farber et al. qui ont montré son efficacité chez des enfants atteints de leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) (216). Développé à la même période, le MTX a finalement remplacé l'aminoptérine car il était associé à un risque de toxicité plus faible et était donc mieux toléré par les patients. Le MTX est largement utilisé depuis les années 50. Il a été approuvé en oncologie en 1955, et est aujourd'hui indiqué dans le traitement de différents cancers solides, leucémies et lymphomes. Il est également indiqué en dermatologie pour le traitement du psoriasis depuis 1972. Enfin, il est utilisé en rhumatologie depuis 1988, principalement pour le traitement de la polyarthrite rhumatoïde et l'arthrite juvénile idiopathique (217).

Le MTX est associé à différents mécanismes d'action le rendant efficace en tant que chimiothérapie mais aussi en tant qu'immunosuppresseur. C'est avant tout un antagoniste de l'acide folique. Son mécanisme d'action principal est l'inhibition compétitive de la dihydrofolate réductase (218). Cette enzyme est responsable de la réduction l'acide dihydrofolique en différents acides tétrahydrofoliques. Cette étape est nécessaire à la synthèse des nucléotides qui forment l'ADN et l'ARN (Figure 20). C'est cette action cytotoxique qui permet au MTX d'être efficace dans le traitement du cancer. Dans le cas de la polyarthrite rhumatoïde, l'efficacité du MTX semble être liée à l'inhibition d'une autre enzyme, l'AICAR transformylase, qui entraîne une accumulation d'adénosine qui a un effet anti-inflammatoire.



**Figure 20 – Mécanisme d'action principal du méthotrexate et stratégies de secours en cas d'élimination retardée**

*D'après Howard et al. (219) DAMPA : 4-deoxy-4-amino-N-10-methylpteroic acid, DHFR : dihydrofolate reductase, dUMP : deoxyuridine monophosphate, FH<sub>2</sub> : dihydrofolate, FH<sub>4</sub> : tetrahydrofolate, LV : leucovorin, MTX : methotrexate, RFC : reduced folate carrier, TMP : thymidine monophosphate*

Le MTX est aujourd'hui commercialisé par plusieurs laboratoires, sous différents noms et formulations. Ainsi, plusieurs modes d'administration sont possibles, par voie orale ou par voie injectable (intraveineuse, intramusculaire ou sous-cutanée). La posologie dépend évidemment de la formulation et de la pathologie traitée. La biodisponibilité du MTX par voie orale est très variable, Inoue et al. rapportent les valeurs de 64% à 90%, avec une forte variabilité interindividuelle observée (220). Elle diminue lorsque la dose augmente, suggérant une saturation du processus d'absorption. Une partie du MTX est métabolisée par le foie, son principal métabolite est le 7-hydroxyméthotrexate. Le MTX se fixe aux protéines plasmatiques à hauteur de 50% environ. Il est principalement éliminé par voie rénale, par filtration glomérulaire et sécrétion tubulaire. Sa demi-vie varie entre 4.5 à 10 heures (221).

La prise de MTX est associée à la survenue de différents effets indésirables. D'après les RCPs des différents médicaments contenant du MTX, les effets indésirables les plus fréquents sont des

affections gastro-intestinales (nausées, vomissements, perte d'appétit) et une hépatotoxicité, avec élévation des taux d'enzymes hépatiques. Les autres effets indésirables incluent la myélosuppression, des infections, des affections respiratoires et du système nerveux. Pour certaines pathologies comme l'ostéosarcome, la LAL et certains lymphomes, le MTX est administré à haute dose. Différents protocoles existent avec des doses variant de 1 g/m<sup>2</sup> à 8 g/m<sup>2</sup>, administrées par voie intraveineuse. Les patients traités à haute dose ont un risque important de développer des toxicités. En particulier, il est courant que ces patients développent une insuffisance rénale aiguë (IRA). D'après Howard et al., 2% à 12% des patients seraient touchés (219). Cet effet indésirable est dû à la précipitation du MTX et de ses métabolites au niveau des tubules rénaux (néphropathie cristalline). Lorsque le MTX est administré à haute dose, deux procédures préventives sont effectuées pour éviter au maximum cette précipitation : l'hyperhydratation, et l'alcalinisation des urines permettent d'augmenter le débit urinaire et d'avoir un pH plus élevé, et donc plus favorable à la solubilisation du MTX. Il a été montré qu'une forte concentration plasmatique de MTX était associée à un risque élevé d'IRA (219). Cette relation est réciproque puisque lorsque la fonction rénale est altérée, l'élimination du MTX est réduite. L'accumulation de MTX peut entraîner d'autres formes de toxicité telles que celles citées ci-dessus. Pour anticiper la survenue de toxicités graves, on réalise un suivi thérapeutique pharmacologique. Le STP permet de surveiller les concentrations plasmatiques de MTX au cours du temps et d'intervenir en cas de concentration trop élevée. L'administration de leucovorine, un médicament qui agit de la même façon que l'acide folique, peut être utilisée pour freiner les effets toxiques du MTX. Néanmoins, il ne doit pas être administré trop tôt au risque de diminuer l'efficacité de ce dernier. En cas de toxicité importante, le patient peut également recevoir du glucarpidase. Ce médicament a pour effet de cliver le MTX en deux métabolites non toxiques, ce qui permet de réduire rapidement la concentration plasmatique de MTX. Les mécanismes d'action de la leucovorine et du glucarpidase sont illustrés dans la Figure 20.

Les concentrations plasmatiques de MTX des patients traités à haute dose sont dosées quotidiennement au laboratoire de pharmacologie dans le cadre du STP. L'objectif de ces travaux était d'analyser ces données de routine hospitalière afin d'étudier la relation entre concentration plasmatique et survenue de toxicité rénale chez des patients traités en oncohématologie pour une LAL ou un lymphome. Nous nous sommes aussi intéressés plus en détail aux patients présentant un surpoids, puisque la dose de MTX est calculée sur la base de la surface corporelle.



## 4.2 Article n°3

Ces travaux ont fait l'objet d'une publication dans le journal *Therapeutic Drug Monitoring* en septembre 2020 (222).

## **Body surface area dosing of high-dose methotrexate should be reconsidered, particularly in overweight, adult patients**

Fanny Gallais<sup>1</sup>, MSc, Lucie Oberic<sup>2</sup>, MD, Stanislas Faguer<sup>3</sup>, MD PhD, Suzanne Tavitian<sup>2</sup>, MD, Thierry Lafont<sup>1,4</sup>, MSc, Sabrina Marsili<sup>4</sup>, MSc, Aurélie Brice<sup>4</sup>, BSc, Etienne Chatelut<sup>1,4</sup>, PharmD PhD, Florent Puisset<sup>1,4,5</sup>, PharmD PhD

<sup>1</sup> Centre de Recherches en Cancérologie de Toulouse, INSERM UMR-1037, CNRS ERL5294, Université Paul Sabatier, Toulouse, France

<sup>2</sup> Département d'hématologie, Institut Universitaire du Cancer de Toulouse-Oncopole, Toulouse, France

<sup>3</sup> Département de Néphrologie et Transplantation d'organes, Centre de référence des maladies rénales rares, Hôpital Rangueil, Centre Hospitalier Universitaire de Toulouse, Toulouse, France

<sup>4</sup> Laboratoire de pharmacologie, Institut Claudius-Regaud, Institut Universitaire du Cancer de Toulouse-Oncopole, Toulouse, France

<sup>5</sup> Département Pharmacie, Institut Claudius-Regaud, Institut Universitaire du Cancer de Toulouse-Oncopole, Toulouse, France

### **Corresponding author**

Etienne Chatelut, PharmD, PhD, Laboratoire de pharmacologie, Institut Claudius-Regaud, Institut Universitaire du Cancer de Toulouse-Oncopole, Toulouse, France; phone : 33 5 31 15 52 50 ; fax : 33 5 31 15 52 38 ; E-mail: [chatelut.etienne@iuct-oncopole.fr](mailto:chatelut.etienne@iuct-oncopole.fr)

### **Acknowledgement**

Dr. Gail Taillefer, native English speaking medical writer (Professor emeritus of English) for her language and editorial support.

### **Conflicts of Interest and Source of Funding**

The authors declare that they have no conflict of interest and that no specific funding was obtained for this study.

## Abstract

**Background:** High-dose methotrexate (HDMTX) is used for treating several types of cancer. However, it is associated with a high risk of acute kidney injury (AKI), especially in patients with high MTX concentrations. Although therapeutic drug monitoring (TDM) is performed to monitor MTX concentrations, it is unclear what concentration should be considered critical, thus requiring rescue protocols to prevent nephrotoxicity.

**Methods:** Patients treated with HDMTX for lymphoma or acute lymphoblastic leukemia and those benefited from TDM were included. The relationship between MTX concentrations and the presence or absence of AKI was assessed. MTX concentrations were analyzed using a population pharmacokinetic approach. Specific attention was given to morphological covariates as MTX doses are individualized according to body surface area (BSA).

**Results:** In total, 328 patients and 657 cycles of treatment were analyzed. Higher MTX concentrations were observed in the AKI+ group. For cycle 1, all patients showing an MTX concentration  $>6 \mu\text{M}$  at 36 h or  $>2 \mu\text{M}$  at 48 h post-infusion developed nephrotoxicity. The final pharmacokinetic model had two compartments and included the effect of age on clearance (CL) and of body weight on peripheral distribution volume. None of the morphological covariates tested on CL led to significant improvement in the model. Higher MTX concentrations were observed in patients with extreme BSA values ( $\geq 2 \text{ m}^2$ ) or body mass index (BMIs) ( $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ ). Patients with AKI who received at least one cycle had higher BSA and BMI.

**Conclusion:** The results from this study provide additional information on the relationship between MTX concentration and nephrotoxicity. Patients with a plasma MTX concentration  $> 6 \mu\text{M}$  at 36 h were more likely to manifest AKI. Additionally, the results suggest that overweight patients have a high AKI risk and that BSA-based adjustment of MTX dose is not appropriate.

## Keywords

High-dose methotrexate; therapeutic drug monitoring; acute kidney injury; body surface area; dose individualization

## 1 Introduction

High-dose methotrexate (HDMTX), defined as a dose  $> 1 \text{ g/m}^2$ , represents one aspect of treatment for various types of cancer, such as osteosarcoma,<sup>1</sup> non-Hodgkin's lymphoma (NHL),<sup>2</sup> and acute lymphoblastic leukemia (ALL).<sup>3,4</sup> In particular, HDMTX is used to prevent and treat primary or secondary localizations of lymphoid malignancies in the central nervous system, with doses ranging from 1 to 8  $\text{g/m}^2$  according to various protocols.<sup>5-7</sup> HDMTX is associated with a high risk of toxicity, including nephrotoxicity, with 2 to 12% of adult patients experiencing acute kidney injury (AKI) following HDMTX administration.<sup>8</sup> Acute HDMTX nephrotoxicity is associated with early decline in glomerular filtration rate (GFR) that further decreases MTX elimination, since MTX is primarily eliminated unchanged by renal excretion. Prolonged exposure to high concentrations of MTX can be life-threatening. Supportive care is therefore needed before, during, and after HDMTX infusion. Since pH-dependent precipitation in urine in the renal tubules is a key mechanism explaining AKI, fluid hydration and urine alkalinization are used to increase MTX solubility in urine to prevent this particular toxicity.<sup>9</sup> Leucovorin (folinic acid) is also administered with HDMTX to prevent systemic toxicity, such as myelosuppression, since its tetrahydrofolate active metabolite can reverse the cellular effects of MTX. It is administered as a rescue protocol, usually not until 24 h to 36 h after beginning MTX infusion to avoid a loss of efficacy. Since the interaction between MTX and leucovorin is competitive, the dosing of latter must be adapted according to observed MTX concentrations. Hence, therapeutic drug monitoring (TDM) is routinely performed to measure MTX plasma concentrations following HDMTX infusion.<sup>10</sup> In cases of AKI and/or great delay in MTX elimination, leucovorin rescue is not sufficient, and glucarpidase (Voraxaze) can be administered to prevent long-term systemic toxicity. Glucarpidase is an enzyme that quickly inactivates MTX by hydrolyzing the glutamate moiety into two nontoxic metabolites and resulting in a  $> 97\%$  decrease in MTX serum concentration.<sup>11</sup> As reported in the FDA Summary of Product Characteristics [FDA v 2019], glucarpidase is indicated for the treatment of toxic MTX plasma concentration ( $> 1 \text{ }\mu\text{M}$ ) in patients with delayed MTX clearance (CL) due to impaired renal function. It is not indicated in patients who exhibit the expected CL of methotrexate. This imprecise recommendation thus raises the obvious question regarding the MTX plasma concentration that should be considered as critical for toxicity in clinical practice. Since MTX-induced nephrotoxicity correlates with MTX CL,<sup>12</sup> doses of MTX should be adapted according to the factors that influence MTX CL. Similar to many other cytotoxic agents, MTX doses are calculated according to the patient's body surface area (BSA). When calculating dosage for overweight or obese patients, current practice includes limiting BSA to  $2 \text{ m}^2$  and considering the body weight.<sup>13</sup> Yet, this practice is questioned since some oncology guidelines recommend considering actual body weight and not limiting BSA to  $2 \text{ m}^2$ .<sup>14</sup> However, this is less clear for hematologic malignancies.<sup>15,16</sup> In this study, we retrospectively analyzed

the pharmacokinetic (PK) data (i.e., plasma MTX concentrations versus time) for TDM performed in clinical practice in patients treated with HDMTX for lymphoid malignancies, including those with post-treatment nephrotoxicity. The main objective was to further identify the effect of early MTX concentration on MTX nephrotoxicity. PK data were also analyzed (according to a population PK approach) to identify factors correlated with PK parameters, and thereby influencing MTX concentrations. The morphological characteristics were given particular consideration since HDMTX doses are individualized according to BSA.

## 2 Patients and Methods

### Patients and treatment

This was a single-center retrospective study conducted in compliance with ethical standards.. Based on the electronic database, we identified patients treated with HDMTX for whom MTX TDM data were available. All patients were treated at the Institut Universtaire du Cancer Toulouse-Oncopole for ALL or NHL, from January 2012 to September 2018. MTX infusion schedules and clinical outcomes were recovered from patients' electronic data files. Patient characteristics (morphologic, biologic, and demographic) were recorded before MTX infusion for all cycles of treatment. Of note, for all patients, GFRs before the first cycle of treatment ranged from 36 to 172 mL/min/1.73 m<sup>2</sup> (ranged from 33 to 185 mL/min), with 96% of them having GFR > 60 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>.

### MTX dose schedules and therapeutic drug monitoring

Administered MTX doses ranged from 1 to 8 g/m<sup>2</sup> (median 3 g/m<sup>2</sup>). For 75% of the treatment cycles, patients had short infusions, ranging from 0.5 to 4 h; while the remaining 25% patients had long infusions, ranging from 22 to 36 h. In 5% of the treatment cycles, patients first received a loading MTX dose corresponding to a 1-to-3-h infusion, containing 10% of the dose, followed by a longer infusion with the remaining 90% dose. TDM was systematically implemented to record MTX plasma concentrations with blood sampling at 36 h and 48 h after the start of infusion. This was then continued every 24 h until the concentration reached below the target level (0.2 µM), at which leucovorin rescue could be discontinued.

### Renal toxicity

AKI was defined as an increase of more than 50% in serum creatinine concentration within 7 days following MTX infusion, according to Common Terminology Criteria for Adverse Events version 5.0 ([https://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic\\_applications/docs/CTCAE\\_v5\\_Quick\\_Refe](https://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic_applications/docs/CTCAE_v5_Quick_Refe)

rence\_5x7.pdf). Patients were divided into two groups depending on the presence or absence of AKI: AKI+ and AKI- groups. Comparison of baseline characteristics between the two groups is presented in Table 1.

**Table 1. Patient characteristics by toxicity observed during cycle 1 (n = 313, data for 15 patients not included owing to missing toxicity information)**

Characteristic	Continuous: mean $\pm$ standard error [range]	
	Categorical: number (%)	
	AKI+ patients (n = 50)	AKI- patients (n = 263)
Age (years)	53.4 $\pm$ 16.7 [19.8-77.6]	49.8 $\pm$ 17.1 [17.8-83.6]
Sex		
Male	26 (52%)	154 (58.6%)
Female	24 (48%)	109 (44.4%)
Disease		
NHL	31 (62%)	200 (76%)
ALL	19 (38%)	63 (24%)
Body weight (kg)	72.4 $\pm$ 13.4 [43-101]	70.2 $\pm$ 15.5 [41-136]
Height (cm)	170.5 $\pm$ 9.1 [155-194]	170.4 $\pm$ 9.5 [147-191]
BSA (m <sup>2</sup> )	1.8 $\pm$ 0.2 [1.4-2.2]	1.8 $\pm$ 0.2 [1.4-2.5]
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	24.8 $\pm$ 3.6 [16.4-32.1]	24.1 $\pm$ 4.8 [15.8-46.7]
Lean body mass (kg)	53.6 $\pm$ 9.5 [35.6-73]	52.6 $\pm$ 9.6 [33.8-83.5]
Ideal body weight (kg)	63.7 $\pm$ 7.8 [52.5-83]	64.0 $\pm$ 7.9 [48.5-80.8]
eGFR (mL/min)	107.7 $\pm$ 23.5 [42.5-165.8]	106.3 $\pm$ 24.3 [33-185.3]
Serum creatinine ( $\mu$ mol/L)	63.9 $\pm$ 17.1 [27-121]	67.9 $\pm$ 18.3 [23-166]
Plasma protein (g/L)	56.9 $\pm$ 6.4 [41-70]	58.3 $\pm$ 6.5 [28-89] (Missing: 11)
Albumin (g/L)	30.2 $\pm$ 4.3 [16-39] (Missing: 10)	31.7 $\pm$ 5.2 [14-59] (Missing: 61)
AST (UI/L)	41.8 $\pm$ 31.2 [10-144] (Missing: 1)	36.7 $\pm$ 28.6 [8-210] (Missing: 16)
ALT (UI/L)	28.2 $\pm$ 16.1 [10-85] (Missing: 1)	28.6 $\pm$ 20.1 [7-164] (Missing: 15)
$\gamma$ GT (g/L)	95.7 $\pm$ 93.3 [14-395] (Missing: 1)	78.8 $\pm$ 82.4 [15-573] (Missing: 15)
Total bilirubin ( $\mu$ mol/L)	15.5 $\pm$ 60.9 [1-436]	7.2 $\pm$ 12.3 [1-162] (Missing: 15)

AKI: acute kidney injury, NHL: non-Hodgkin's lymphoma, ALL: acute lymphoblastic leukemia, BSA: body surface area, BMI: body mass index, eGFR: estimated GFR according to CKD-EPI formula corrected by individual BSA, AST: aspartate aminotransferase, ALT: alanine aminotransferase,  $\gamma$ GT: gamma glutamyl transferase total

### MTX plasma concentrations

Sampling times ranged from 10 to 278 h after the beginning of the infusion. Blood samples were collected and the tubes were centrifuged at 1500 ×g at 20 °C for 10 min and stored at 4 °C. MTX plasma concentrations were determined by homogeneous enzyme immunoassay (ARK Methotrexate Assay, Fremont, CA, USA) with an automated clinical chemistry analyzer (EXL2 Siemens, Siemens Healthcare Diagnostics Inc, Saint-Denis, France), until November 2017. Subsequently, MTX concentrations were determined by ultra-performance liquid chromatography in tandem with mass spectrometry (Waters, Saint-Quentin-en-Yvelines, France). The lower limit of quantification (LLOQ) of the drug using both the methods was 0.05 µM. A cross-validation of the methods was performed using samples from 25 patient (range of MTX concentrations: 0.07 – 26.2 µM). There was no significant bias between the two methods, with an excellent correlation between the paired values (correlation coefficient > 0.98).

### Relationship between MTX concentrations and AKI

A descriptive statistical analysis was performed to compare MTX plasma concentrations between AKI+ and AKI- patients. In particular, the concentrations observed around 36 h (34 h to 38 h) and 48 h (46 h to 50 h) after the start of infusion were compared for statistical significance for the first cycle of treatment, using the Wilcoxon test. Additionally, a receiver operating characteristic (ROC) analysis was performed with the data from the first cycle to assess whether the concentrations at 36 h or 48 h could predict AKI. Area under the ROC curve (AUC) was calculated and a cut-off concentration value, reflecting the maximum combination of sensitivity and specificity, was determined. The lowest concentration associated with a specificity of 100% was also determined.

### Population pharmacokinetic analysis

MTX concentrations were analyzed using a population PK approach. The MTX concentrations following administration of glucarpidase were not included. For concentrations under the LLOQ, the first measurement was set to  $LLOQ/2 = 0.025 \mu M$ , with the following measurements being treated as missing values. Several structural models were investigated (1-3 compartments, linear or Michaelis-Menten elimination). Inter-individual variability was tested for all PK parameters as an exponential model. Inter-occasion variability was assessed for all PK parameters. Each occasion  $k$  ( $k = 1, \dots, N$ ) was associated with a variability  $\eta_{k,i}$ . All  $\eta_{k,i}$  followed the same normal distribution  $N(0, \omega_{occ})$ . Each characteristic listed in Table 1 was tested in the model as a potential covariate. In particular, the impact of morphological and biological covariates on PK parameters was explored. Continuous covariates were modeled as an allometric function, while categorical covariates were added to the model in a multiplicative form. Covariates were first tested individually in a univariate analysis. Covariates

associated with a decrease in objective function value (OFV)  $> 3.84$  ( $\chi^2$  test,  $df = 1$ ,  $p \leq 0.05$ ) and a significant decrease in inter-individual variability were selected for multivariate analysis. All significant covariates were included in the model and removed one by one. If removal of a covariate was associated with an increase in OFV  $> 6.6$  ( $\chi^2$  test,  $df=1$ ,  $p \leq 0.01$ ), the covariate was retained in the model, else it was definitively removed. This process was continued until only significant covariates were left in the model. For covariates with a high number of missing values, it was decided to remove patients with missing values to allow quantification of the covariate effect. Model selection and evaluation was based on OFV, goodness-of-fit plots, residual variability, and relative standard errors. Model development was performed with NONMEM version 7.4.1 (ICON Development Solutions, Ellicott City, MD, USA), using the first order conditional estimation with interaction estimation method.

### Impact of morphological characteristics

The impact of morphological characteristics was further explored. Patients were divided into two groups according to their BSA ( $< 2 \text{ m}^2$  or  $\geq 2 \text{ m}^2$ ), and then into three groups according to body mass index (BMI) ( $< 18 \text{ kg/m}^2$ ,  $\geq 25 \text{ kg/m}^2$  or in-between). A descriptive statistical analysis was performed to compare MTX plasma concentrations normalized by dose (in  $\text{mg/m}^2$ ) among the morphological subgroups. They were then statistically compared during the first cycle of treatment, using the Wilcoxon test. In addition, BSA and BMI distribution, according to AKI+/- group, were evaluated to assess the relationship between obesity and nephrotoxicity. Finally, several morphological covariates were tested in the final PK model to determine whether they could explain the remaining inter-individual variability on MTX elimination CL. The covariates included body weight (BW), BMI, BSA, ideal bodyweight (IBW), BSA calculated using IBW, and mean value between BW and IBW.

## **3 Results**

### **3.1 Data**

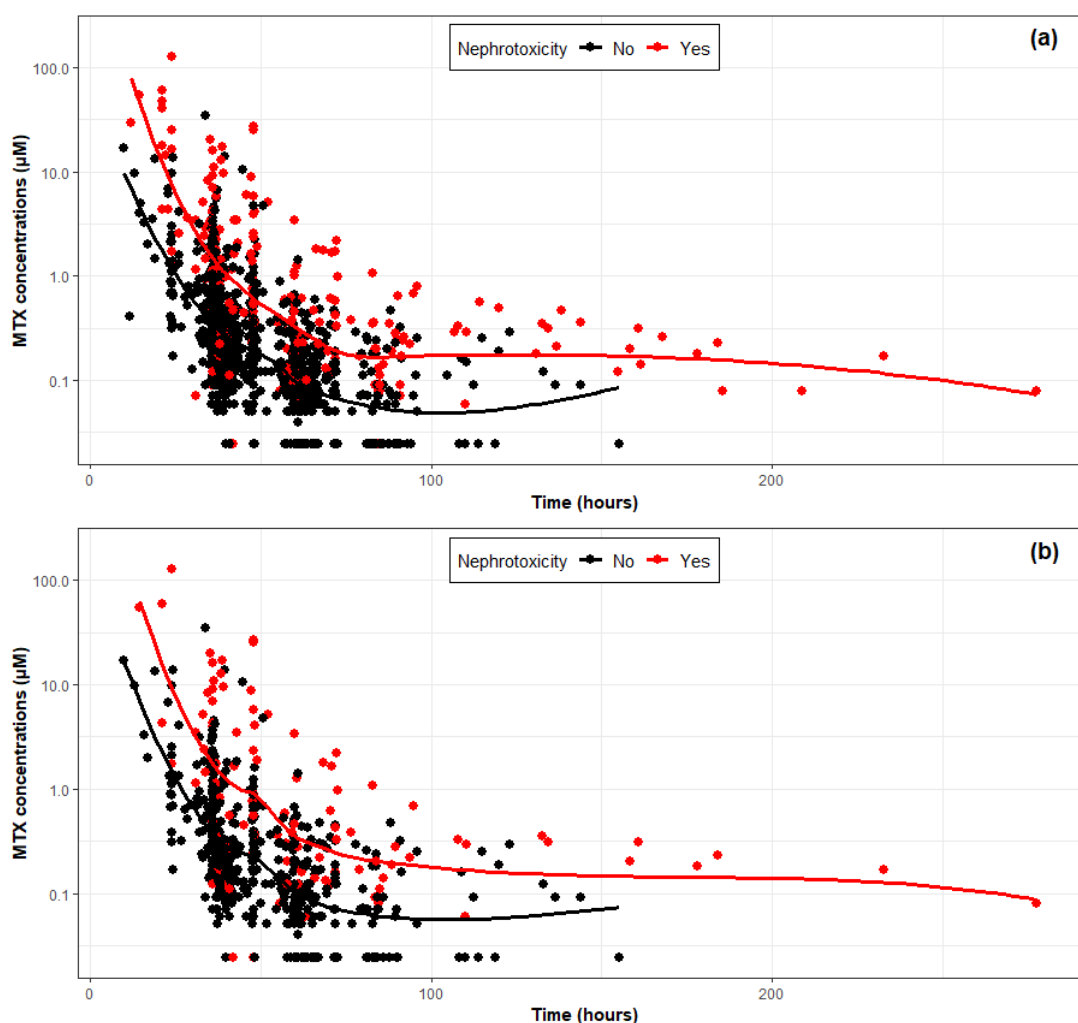
Data from 328 patients who were treated with HDMTX and benefited from TDM were available for analysis. Of these, 84 were treated for ALL and 244 for NHL. A total of 657 cycles of treatment were available for patients having 1 to 8 cycles of treatment (median: 2 cycles). Patients' characteristics during cycle 1 are summarized in Table 1.

### **3.2 Renal toxicity**

Toxicity information was recovered for 622 cycles of treatment. Of these, 96 (15%) were associated with AKI. Figure 1a presents all the MTX concentrations observed over time, based on the type of toxicity. At 36 h after the start of the infusion, mean observed concentration was  $3.3 \text{ }\mu\text{M}$  in the AKI+



group versus 0.7  $\mu\text{M}$  for the AKI- patients and at 48 h, the observed concentrations were 4.5  $\mu\text{M}$  and 0.4  $\mu\text{M}$ , respectively. The same difference was observed for the first cycle of treatment (Figure 1b). The mean 36-h concentration was 4.3  $\mu\text{M}$  and 0.7  $\mu\text{M}$  in the AKI+ and AKI- groups, respectively ( $p = 0.002$ ). At 48 h, the concentrations were 6.0  $\mu\text{M}$  and 0.4  $\mu\text{M}$ , respectively ( $p = 0.0002$ ). The ROC analysis using first cycle 36-h concentrations led to an optimal cut-off value (maximum sensitivity and specificity combination) of 1.1  $\mu\text{M}$  with 83% specificity, 57% sensitivity, and a ROC AUC of 0.71, which was significantly different from 0.5 (95% confidence interval [0.57-0.86]). A specificity of 100% was obtained at a concentration of 5.7  $\mu\text{M}$  at 36 h. At 48 h, the optimal cut-off value was 0.75  $\mu\text{M}$  with 90% specificity, 69% sensitivity, and a ROC AUC of 0.83 [0.67-0.99]. A specificity of 100% was obtained at 1.8  $\mu\text{M}$ . However, the ROC curve for the concentration at 48 h was not statistically better than for the concentration at 36 h ( $p = 0.29$ ). There was no significant association between AKI and the administration of a loading dose (yes vs. no), and between AKI and the duration of the perfusion (short vs. long) ( $\chi^2$  test,  $p = 0.11$  and  $p = 0.14$ , respectively). By analyzing the data from 132 patients for whom a complete record of MTX treatment cycles was available, no statistical difference was observed for both the number of cycles (2.7 vs. 2.0,  $p = 0.06$ ) and the cumulative dose (13217 mg vs. 9867 mg,  $p = 0.18$ ) for patients with or without toxicity, respectively.



**Figure 1** – MTX plasma concentrations versus time per group of toxicity for (a) all cycles of treatment and (b) first cycle of treatment

### 3.3 Population pharmacokinetic model

A total of 1179 MTX concentrations were available for the population PK model development. The final base model was a 2-compartment model, with linear elimination from the central compartment. To overcome the lack of observed concentrations at early time points (< 24 h), the intercompartmental CL was fixed to 0.15 L/h, as reported by Faltaos et al.<sup>17</sup> Inter-individual variability was estimated for CL and peripheral volume of distribution (V2). Inter-individual variability for central volume of distribution (V1) and intercompartmental clearance (Q) could not be estimated. Additional estimation of inter-occasion variability for CL was found to significantly improve model predictions (difference in OFV = - 379 points, when considering six distinct occasions, one for each of the first six cycles and cycles > 6 taken together with the 6<sup>th</sup> cycle). Characteristics listed in Table 1 were tested as covariates in the model. The final model included the effect of age on CL and the effect of BW on V2. The infusion

duration (short vs. long) did not influence the PK parameters. The final parameter estimates are shown in Table 2.

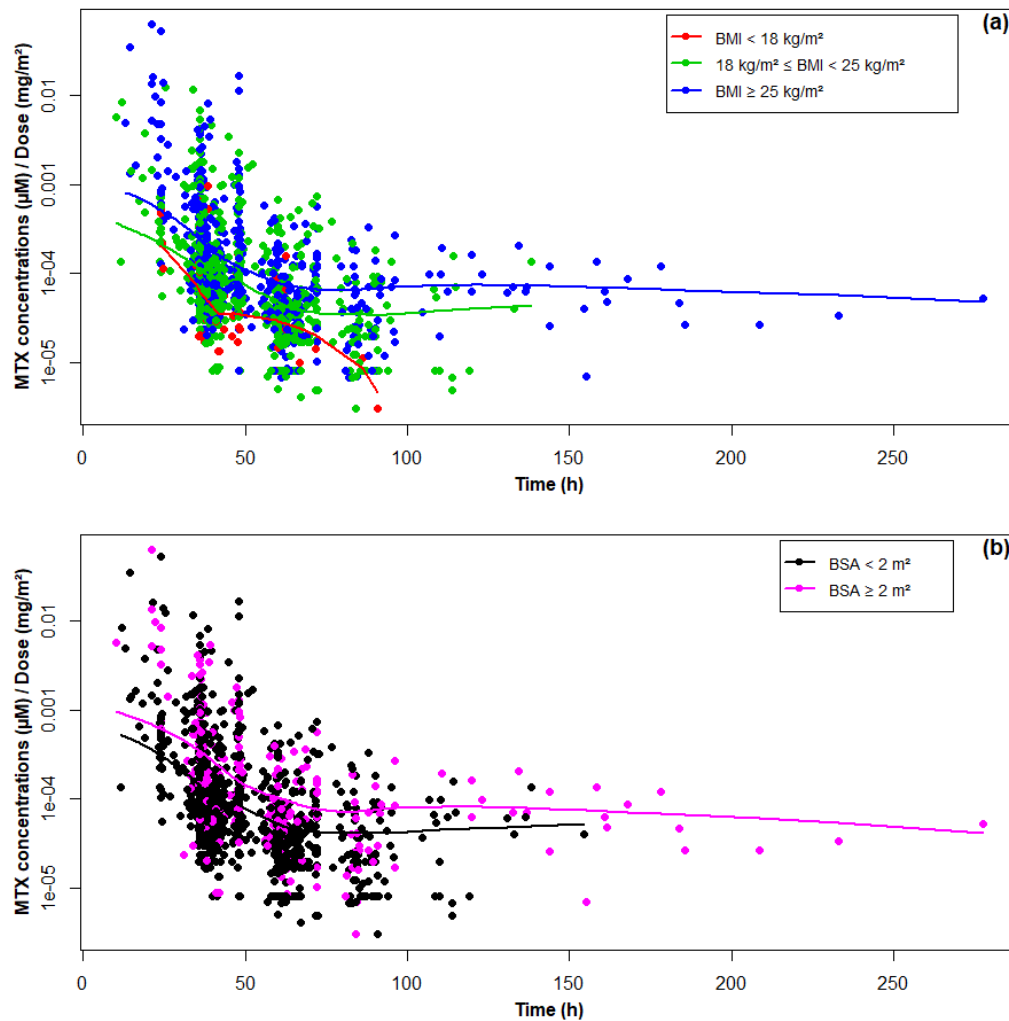
**Table 2. Parameter estimates for population pharmacokinetic model of methotrexate**

Parameters (unit)	Estimation (RSE, %)
$CL = TVCL * \left(\frac{Age}{50}\right)^{\theta_{Age}}$	
TVCL (L.h <sup>-1</sup> )	8.3 (5%)
$\omega_{CL}$ (CV, %)	23% (11%)
IOV CL (CV, %)	22% (7%)
$\theta_{Age}$ : Age on CL	-0.317 (14%)
V1 (L)	27.4 (10%)
Q (L.h <sup>-1</sup> )	0.15 fixed
$V2 = TVV2 * \left(\frac{BW}{70}\right)^{\theta_{BW}}$	
TVV2 (L)	3.1 (6%)
$\omega_{V2}$ (CV, %)	38% (8%)
$\theta_{BW}$ : BW on V2	0.453 (42%)
Proportional residual variability $\sigma$ (CV, %)	34% (9%)

*TV: typical value,  $\omega$ : inter-individual variability, IOV: inter-occasion variability, CV: coefficient of variation, RSE: relative standard error, BW: body weight, CL: clearance, V1: central volume of distribution, V2: peripheral volume of distribution, Q: inter-compartmental clearance (fixed from Faltaos et al.<sup>17</sup>)*

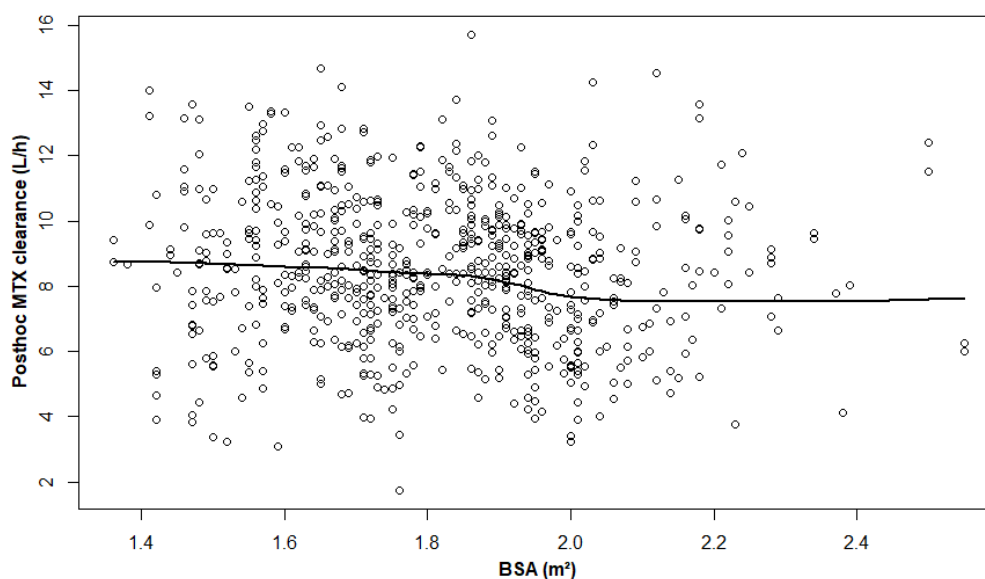
### 3.4 Impact of morphological characteristics

The relationship between MTX PK and morphology was further explored. The MTX concentrations, normalized by dose (expressed in mg/m<sup>2</sup>) for each group of BSA or BMI, are presented in Figure 2. For cycle 1, patients with BMI > 25 kg/m<sup>2</sup> or BSA > 2 m<sup>2</sup> had significantly higher ratios of MTX concentrations per dose ( $p = 5.10^{-4}$  and  $p = 0.02$ , respectively). Additionally, for cycle 1, the median BMI and median BSA were 1.07- and 1.02-fold higher, respectively, in the AKI+ group; however, this difference was not statistically significant ( $p = 0.08$  and  $p = 0.3$ , respectively). When considering all the cycles of treatment, patients who had at least one cycle with AKI had 1.09-fold higher median BMI and 1.06-fold higher median BSA ( $p=0.001$  and  $p=0.003$ , respectively).



**Figure 2** – MTX concentrations normalized by dose, per group of Body Surface Area (a) and Body Mass Index (b) for all cycles of treatment

In the PK model, no association was observed between posthoc MTX elimination CL and BSA (Figure 3). In addition, several morphological parameters (BW, BMI, BSA, IBW, BSA calculated on IBW, mean value between BW and IBW) were included for CL in the final model to test whether they could explain the remaining inter-individual variability. All covariates led to a drop in OFV lower than 3.84, confirming the lack of correlation between morphological parameters and MTX PK.



**Figure 3** – Posthoc MTX clearance of elimination versus Body Surface Area

## 4 Discussion

The results from this study confirm that elevated MTX concentrations are associated with a risk of nephrotoxicity. Additionally, since morphological characteristics do not influence MTX PK, individual dosing based on BSA should be revised to better manage the risk of toxicity.

We observed at least one case of nephrotoxicity in 13.4% and 23.2% of NHL and ALL patients, respectively. The current ALL protocols are focused of pediatric populations.<sup>18</sup> To our knowledge, no study has been published on AKI incidence in adults with ALL. May et al. observed AKI in nearly 9% of NHL patients,<sup>19,20</sup> but a higher incidence of 14% has been reported in patients with altered performance status treated with polychemotherapy for primary central nervous system NHL.<sup>21</sup> The patients in this study were not selected according to their performance status, and most of them were treated with MTX as a combination regimen, which may explain the relatively high incidence of AKI observed.

Patients with nephrotoxicity had significantly higher plasma MTX concentrations than those without toxicity. Although our data do not allow defining accurate cut-off values, the level of 0.75  $\mu\text{M}$  as determined using ROC analysis (for concentrations at 48 h) was consistent with the 0.5- to 1- $\mu\text{M}$  level, which was proposed as the limit when considering a patient at risk for nephrotoxicity.<sup>22,23</sup> However, as MTX is mainly eliminated via the renal route, the relationship between MTX plasma concentration and nephrotoxicity risk is likely to be reciprocal; moreover, it is necessary to consider that nephrotoxicity

is followed by decreased MTX CL and then higher plasma concentrations. In our study, this was illustrated by the increasing trend in the mean observed MTX concentrations from 36 h to 48 h in patients who developed AKI. We also identified that during cycle 1, all patients who had MTX concentrations  $> 6 \mu\text{M}$  and  $> 2 \mu\text{M}$  at 36 h and 48 h, respectively, after the start of infusion, developed nephrotoxicity. Thus, we can conclude that patients with MTX concentrations above these thresholds present a higher risk for toxicity. These observations may be useful when prescribing glucarpidase, despite the fact that a part of the correlation was attributed to the effect of renal function on MTX concentrations. MTX TDM should be considered as a complementary and early sign of nephrotoxicity. Our results offer valuable information regarding the current recommendations for glucarpidase prescription. They suggest restraining the indications stated in the Voraxaze package insert, i.e., concentrations  $> 1 \mu\text{M}$ . These concentrations are expected to be used for all patients treated with HDMTX, invalidating the recommendation with no specification of the time frame. To compensate for this lack of useful indication, several groups have proposed more accurate recommendations, and guidelines have been defined by an international group of experts.<sup>12</sup> These recommendations are based on the increase in serum creatinine (Scr) level from the baseline level and MTX plasma concentrations: e.g., for  $1\text{--}8 \text{ g/m}^2$  MTX infused over 24–42 h or  $8\text{--}12 \text{ g/m}^2$  infused over  $\leq 6 \text{ h}$ , 48 h MTX threshold concentration is  $5 \mu\text{M}$ . A health committee of the Center Region of France has proposed considering 48 h MTX concentrations: glucarpidase should be administered if MTX concentration is  $> 3 \mu\text{M}$  and if there is a  $> 50\%$  increase in Scr level or if MTX concentration is  $> 10 \mu\text{M}$ , even without any change in Scr level.<sup>24</sup> Our results also suggest that the use of glucarpidase should be considered if the 48 h MTX concentration is  $> 2 \mu\text{M}$  after a  $1\text{--}8 \text{ g/m}^2$  infusion (previously administered as infusion over  $\leq 6 \text{ h}$ ). The cut-off values identified in this study (i.e.,  $6 \mu\text{M}$  and  $2 \mu\text{M}$  at 36 h and 48 h, respectively) were lower than those proposed by Ramsey et al.<sup>12</sup> This may be attributed to the fact that the consensus guidelines proposed by Ramsey et al were mostly based on pediatric data, whereas our study was based on adult data. It is well known that HDMTX-induced AKI risk is higher in adults than in children.<sup>25</sup> Moreover, our observed concentrations were associated with an increased risk for AKI, suggesting that the use of glucarpidase could be warranted but might not definitively support its compulsory indication. Thus, further investigations are required to determine MTX concentrations predictive of life-threatening toxicity in adults.

Another main finding of this retrospective analysis of HDMTX TDM data is the poor rationale used in calculating individual dose according to patient BSA. The covariate analysis allowed us to identify age as the main characteristic that correlated with MTX CL. It should be noted that this model was developed for adult patients and that the relationship between CL and age cannot be used to extrapolate MTX CL in pediatric populations. Scr level and the ratio of body weight/Scr level were

significant covariates in univariate analysis but not in the intermediate model, including all significant covariates. The latter may be explained by the fact that patients with severely impaired renal function cannot continue this treatment. MTX CL did not correlate with any of the morphologic characteristics. Consecutively, as shown in Figure 2, higher plasma MTX concentrations (normalized by dose) were observed in patients with  $BSA > 2 \text{ m}^2$ . Moreover, obesity may be considered an aggravating factor. Patients with  $BMI > 25 \text{ kg/m}^2$  had higher MTX concentrations (normalized by dose), and BSA and BMI were higher in patients with AKI who received at least one cycle. None of the morphological covariates tested for CL led to a significant reduction in OFV. Volume of distribution was directly correlated with BW, implying that higher the BW, longer was the MTX half-life. As prolonged exposure to MTX is also a cause of nephrotoxicity, we may conclude from the current data that the calculation of HDMTX according to BSA is associated with higher and longer MTX exposure and thus with a higher risk of toxicity. One limitation of our study is that it was based on retrospective and sparse data. However, as the typical values of the PK parameters (all estimated, except Q) obtained were consistent with those published in prospective clinical trials, we can consider our model to be reliable.<sup>17,26</sup>

In oncology practice, ASCO guidelines recommend using actual body weight-based chemotherapy dosage without limiting BSA to  $2 \text{ m}^2$ .<sup>14</sup> Our results contradict this guideline that is of particular concern in hematologic malignancies. As high-dose chemotherapy can be associated with irreversible toxicities, it is recommended to use ideal estimated BW to adapt doses for some intensification regimens in obese patients.<sup>15</sup> Results from the French ALL study GRAALL-2014<sup>27</sup> are in line with the ASCO guidelines for all chemotherapy regimens. However, in its earlier release, the trial suggested limiting BSA for MTX dose adjustment in obese patients. In our study, the dose of MTX was calculated according to the actual BSA of patients, and there was no dose adjustment in either obese patients or patients with  $BSA > 2 \text{ m}^2$ . According to our results, reintroducing the practice of limiting BSA to  $2 \text{ m}^2$  should theoretically be recommended when calculating MTX dose. Moreover, rather than using BSA, the first dose of MTX could be fixed at a median level, with subsequent doses adapted based on individual PK parameters observed in the previous cycle. This approach to PK-guided infusion rate individualization in children treated with MTX for ALL has led to a reduction in overdosing and toxicity.<sup>28</sup>

## 5 Conclusion

We present a retrospective analysis of TDM of HDMTX plasma concentrations in patients with lymphoma and ALL. Our study provides additional information when considering the eligibility of a patient for glucarpidase rescue. Patients showing plasma MTX concentrations  $> 6 \text{ }\mu\text{M}$  at 36 h and  $2 \text{ }\mu\text{M}$  at 48 h are more likely to develop nephrotoxicity. The correlation between MTX concentrations and

morphological characteristics was explored using a population PK model. Higher MTX concentration per dose ratios were observed in patients with high BSA or BMI. Our results suggest that BSA-based adjustment of MTX dose a priori is not appropriate.

## 6 References

1. Zhang Y, Yang J, Zhao N, et al. Progress in the chemotherapeutic treatment of osteosarcoma. *Oncol Lett*. 2018;16(5):6228-6237.
2. Jahnke K, Korfel A, Martus P, et al. High-dose methotrexate toxicity in elderly patients with primary central nervous system lymphoma. *Ann Oncol*. 2005;16(3):445-449.
3. Hoelzer D, Bassan R, Dombret H, et al. Acute lymphoblastic leukaemia in adult patients: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2016;27(suppl 5):v69-82.
4. Sakura T, Hayakawa F, Sugiura I, et al. High-dose methotrexate therapy significantly improved survival of adult acute lymphoblastic leukemia: a phase III study by JALSG. *Leukemia*. 2018;32(3):626-632.
5. Plotkin SR, Betensky RA, Hochberg FH, et al. Treatment of relapsed central nervous system lymphoma with high-dose methotrexate. *Clin Cancer Res*. 2004;10(17):5643-5646.
6. Zhu J-J, Gerstner ER, Engler DA, et al. High-dose methotrexate for elderly patients with primary CNS lymphoma. *Neuro Oncol*. 2009;11(2):211-215.
7. DeAngelis LM, Iwamoto FM. An update on therapy of primary central nervous system lymphoma. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2006;2006(1):311-316.
8. Howard SC, McCormick J, Pui C-H, Buddington RK, Harvey RD. Preventing and managing toxicities of high-dose methotrexate. *Oncologist*. 2016;21(12):1471-1482.
9. Widemann BC, Adamson PC. Understanding and managing methotrexate nephrotoxicity. *Oncologist*. 2006;11(6):694-703.
10. Paci A, Veal G, Bardin C, et al. Review of therapeutic drug monitoring of anticancer drugs part 1 – Cytotoxics. *Eur J Cancer*. 2014;50(12):2010-2019.
11. Schwartz S, Borner K, Müller K, et al. Glucarpidase (carboxypeptidase G2) intervention in adult and elderly cancer patients with renal dysfunction and delayed methotrexate elimination after high-dose methotrexate therapy. *Oncologist*. 2007;12(11):1299-1308.
12. Ramsey LB, Balis FM, O'Brien MM, et al. Consensus guideline for use of glucarpidase in patients with high-dose methotrexate induced acute kidney injury and delayed methotrexate clearance. *Oncologist*. 2018;23(1):52-61.
13. Gurney H, Shaw R. Obesity in dose calculation: a mouse or an elephant? *J Clin Oncol*. 2007;25(30):4703-4704.
14. Griggs JJ, Mangu PB, Anderson H, et al. Appropriate chemotherapy dosing for obese adult patients with cancer: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline. *J Clin Oncol*. 2012;30(13):1553-1561.



15. Bubalo J, Carpenter PA, Majhail N, et al. Conditioning chemotherapy dose adjustment in obese patients: a review and position statement by the American Society for Blood and Marrow Transplantation practice guideline committee. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014;20(5):600-616.
16. Brunstein CG, Pasquini MC, Kim S, et al. Effect of conditioning regimen dose reduction in obese patients undergoing autologous hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2019;25(3):480-487.
17. Faltaos DW, Hulot JS, Urien S, et al. Population pharmacokinetic study of methotrexate in patients with lymphoid malignancy. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2006;58(5):626-633.
18. Huguet F, Leguay T, Raffoux E, et al. Pediatric-inspired therapy in adults with Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia: the GRAALL-2003 study. *J Clin Oncol*. 2009;27(6):911-918.
19. May J, Carson KR, Butler S, Liu W, Bartlett NL, Wagner-Johnston ND. High incidence of methotrexate associated renal toxicity in patients with lymphoma: a retrospective analysis. *Leuk Lymphoma*. 2014;55(6):1345-1349.
20. Ranchon F, Vantard N, Henin E, et al. Delayed methotrexate elimination: Incidence, interaction with antacid drugs, and clinical consequences? *Hematol Oncol*. 2018;36(2):399-406.
21. Hoang-Xuan K, Taillandier L, Chinot O, et al. Chemotherapy alone as initial treatment for primary CNS lymphoma in patients older than 60 years: a multicenter phase II study (26952) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer Brain Tumor Group. *J Clin Oncol*. 2003;21(14):2726-2731.
22. Stoller RG, Hande KR, Jacobs SA, Rosenberg SA, Chabner BA. Use of plasma pharmacokinetics to predict and prevent methotrexate toxicity. *N Engl J Med*. 1977;297(12):630-634.
23. Evans WE, Pratt CB, Taylor RH, Barker LF, Crom WR. Pharmacokinetic monitoring of high-dose methotrexate. Early recognition of high-risk patients. *Cancer Chemother Pharmacol*. 1979;3(3):161-166.
24. OMÉDIT Centre - Carboxypeptidase-G2 (VORAXAZE®) et surexpositions au methotrexate [Internet]. [http://www.omedit-centre.fr/portail/gallery\\_files/site/136/2953/5062/5102.pdf](http://www.omedit-centre.fr/portail/gallery_files/site/136/2953/5062/5102.pdf). Accessed August 18, 2020
25. Susantitaphong P, Cruz DN, Cerda J, et al. World incidence of AKI: A meta-analysis. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN*. 2013;8(9):1482-1493.
26. Benz-de Bretagne I, Zahr N, Le Gouge A, et al. Urinary coproporphyrin I/(I + III) ratio as a surrogate for MRP2 or other transporter activities involved in methotrexate clearance. *Br J Clin Pharmacol*. 2014;78(2):329-342.
27. Multicenter study of risk-adapted treatment for T-lineage all of young adults (18-59 Years Old) - ClinicalTrials.gov.. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02619630>. Accessed August 18, 2020
28. Pauley JL, Panetta JC, Crews KR, et al. Between-course targeting of methotrexate exposure using pharmacokinetically guided dosage adjustments. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2013;72(2):369-378.

### 4.3 Discussion

Ces travaux additionnels consistaient en l'analyse de données pharmacocinétiques de MTX chez des patients d'oncohématologie. Ces données sont celles du suivi thérapeutique pharmacologique de ces patients, traités à haute dose de MTX pour une LAL ou un LNH. Le STP est un outil précieux pour l'individualisation des doses de médicament et de la prise en charge. L'idée du STP est de surveiller les concentrations plasmatiques pendant un traitement pour éviter le sous-dosage et le surdosage des patients, qui pourraient respectivement être associés à une perte d'efficacité et au développement de toxicités. Dans les années 60, on a commencé à surveiller les concentrations plasmatiques pour quelques médicaments à la marge thérapeutique étroite tels que le lithium, la digoxine, le phénytoïne, le phénobarbital, la theophylline, et les aminoglycosides. D'autres ont rapidement suivi : la vancomycine, la carbamazépine, la cyclosporine et le tacrolimus (223). Le STP est aujourd'hui utilisé avec succès dans différents domaines thérapeutiques. Il s'avère efficace et nécessaire si les conditions suivantes sont réunies : le médicament a une marge thérapeutique étroite, les concentrations plasmatiques présentent une variabilité interindividuelle importante et une variabilité intra-individuelle limitée, il existe une relation entre les concentrations plasmatiques ou l'exposition et la pharmacodynamie (critère d'efficacité ou de toxicité), il n'existe pas d'autre marqueur qui soit une meilleure alternative que le TDM et la durée du traitement est suffisante, avec de possibles conséquences cliniques justifiant l'ajustement de la dose (223,224). Dans les années 70, Lewis Sheiner introduit les principes de la pharmacométrie, avec l'idée qu'elle devrait servir d'outil pour le STP (225). En effet, les approches PK et PK-PD de population peuvent être utilisées pour analyser les concentrations obtenues par le STP des patients. Elles peuvent par exemple permettre de reconstituer le profil pharmacocinétique complet d'un patient à partir d'une concentration résiduelle, de prédire la dose adéquate pour ce patient, ou encore de simuler le résultat de potentiels changements de posologie.

Dans le cas présent, le STP permet principalement de détecter les patients présentant de fortes concentrations plasmatiques de MTX et ayant donc un risque élevé de développer des toxicités liées à ce médicament. Le niveau de concentration plasmatique de MTX et la créatininémie sont les deux indicateurs principaux qui permettent de décider si le patient devrait recevoir ou non un traitement antidotique par glucarpidase (226). Le glucarpidase permet de réduire rapidement la concentration du MTX et ainsi d'éviter le développement de toxicités à long terme (227). Néanmoins, les conditions de son utilisation restent hétérogènes entre les différentes institutions, même si certains groupes d'experts ont proposé des guidelines pour son utilisation (226). Dans ce travail, nous avons mis en évidence des niveaux de concentration plasmatique de MTX au-dessus desquels les patients seraient

extrêmement à risque de développer une IRA : 6  $\mu\text{M}$  à 36 heures après le début de la perfusion et 2  $\mu\text{M}$  à 48 heures après le début de la perfusion. Ces résultats présentent une indication supplémentaire pour la décision de l'utilisation du glucarpidase. La question de l'utilisation de ce dernier est également importante d'un point de vue économique puisque le glucarpidase est un médicament particulièrement onéreux (228). C'est pourquoi, il est important de définir les conditions dans lesquelles son utilisation est nécessaire.

Dans cette analyse, nous avons également voulu nous attarder plus en détail sur les concentrations observées et les cas de développements d'IRA chez les patients présentant un surpoids. Il s'agissait de patients ayant une surface corporelle (BSA) de plus de 2  $\text{m}^2$  ou un IMC de plus de 25  $\text{kg}/\text{m}^2$ . La pratique actuelle consiste à calculer la dose de MTX en se basant sur la BSA (229). Néanmoins, pour les patients ayant une BSA supérieure à 2  $\text{m}^2$ , il est possible d'utiliser la valeur limite de 2  $\text{m}^2$  et non leur véritable BSA, et de prendre en compte leur poids, pour éviter les surdosages (230). Dans notre analyse, nous avons trouvé que les patients en surpoids présentaient des concentrations (normalisées par la dose) significativement plus élevées, et que la BSA et l'IMC moyens étaient significativement plus élevés chez les patients ayant eu au moins un cycle avec une IRA. De plus, la clairance du MTX n'était corrélée avec aucune des covariables morphologiques testées. Historiquement, la dose de nombreux cytotoxiques est calculée à partir de la BSA (231), et cette pratique a également été adoptée pour le MTX. Néanmoins, nos résultats semblent suggérer que ce calcul n'est pas adapté pour les hautes doses de MTX, et que les patients en surpoids présentent un risque accru de surdosage. Il pourrait être plus pertinent d'adapter la dose à chaque cycle de traitement en se basant sur la pharmacocinétique du cycle précédent.

Pour conclure, nous avons analysé les concentrations plasmatiques de MTX pour des patients traités à haute dose en oncohématologie. Nous avons mis en évidence des niveaux de concentration associés à un risque élevé de développer une IRA. Nos résultats suggèrent que le calcul de la dose basé sur la BSA n'est pas adapté, et qu'il faudrait envisager de la calculer à partir de données pharmacocinétiques.

## Conclusion générale et perspectives

Ces travaux de thèse s'intéressaient à la pharmacocinétique de deux médicaments inhibiteurs de kinases, l'ibrutinib et l'idelalisib, tous deux indiqués dans le traitement de plusieurs hémopathies malignes dont la LLC. Les analyses conduites reposaient sur les données obtenues dans l'étude clinique en vie réelle PK-E3i. Cette étude a permis le suivi de patients traités par ibrutinib ou idelalisib pour une LLC, un LCM, une MW ou un LF pour une durée allant jusqu'à deux ans.

La partie principale de ce travail reposait sur l'étude de l'ibrutinib, un médicament récemment approuvé pour le traitement de plusieurs hémopathies malignes. L'arrivée sur le marché de l'ibrutinib pour le traitement de la LLC a été une avancée importante et couronnée de succès. La molécule fait aujourd'hui partie des options de première ligne de traitement pour la LLC et remplace ainsi les traitements plus classiques par chimiothérapie.

Dans ces travaux, nous nous sommes tout d'abord intéressés en détail à la pharmacocinétique de l'ibrutinib. Nous avons développé un modèle pharmacocinétique de population permettant de décrire les concentrations d'ibrutinib et de son principal métabolite actif, le dihydrodiol ibrutinib. Cette approche nous a permis de quantifier la variabilité inter- et intra-individuelle pharmacocinétique des deux molécules. Les résultats obtenus avec ce modèle nous ont permis de discuter différents aspects cliniques du traitement par ibrutinib. Nous avons montré que les patients possédant l'allèle \*22 du CYP3A4 avaient de plus fortes concentrations en ibrutinib et en dihydrodiol ibrutinib. Nous avons également mis en évidence une même exposition plasmatique entre les patients répondeurs à l'ibrutinib et ceux dont la maladie progresse, indiquant que la dose recommandée d'ibrutinib est probablement supérieure à celle nécessaire pour atteindre l'efficacité et qu'elle pourrait être diminuée comme cela a été suggéré dans d'autres études. Enfin, nous avons exploré la question de l'intérêt du STP pour l'ibrutinib. Certains arguments sont en faveur de la mise en place d'un STP : la variabilité interindividuelle est importante et aucune covariable permettant de la contrôler a priori n'a été identifiée ; il existe une association entre exposition au médicament et arrêt du traitement pour cause de toxicité. Néanmoins l'ibrutinib démontre une importante variabilité intra-individuelle, ce qui rend la mise en place du STP plus complexe. Le modèle PK que nous avons développé pourra notamment être utilisé pour contrôler l'exposition à l'ibrutinib et optimiser les régimes de dose. Nous travaillons actuellement sur la proposition d'un protocole de prélèvements sanguins en nombre limité (*Limited sampling strategy*) permettant de calculer l'AUC de l'ibrutinib par une approche bayésienne, à partir de notre modèle PK, et ainsi contribuer à la mise en place d'un STP pour ce médicament.

Dans une deuxième partie, nous nous sommes servis de ce modèle pharmacocinétique de l'ibrutinib pour développer un modèle PK-PD décrivant l'évolution du taux de lymphocytes circulants au cours du temps chez des patients atteints de LLC traités par ibrutinib. Notre modèle a été développé à partir de connaissances physio-pharmacologiques et a permis, pour la première fois, de décrire les différents profils de réponse qui ont été mis en évidence dans la littérature. L'approche de population nous a une fois de plus permis de quantifier la variabilité interindividuelle des paramètres PK-PD. Deux effets de l'ibrutinib ont pu être décrits : la stimulation du relargage des lymphocytes des tissus vers la circulation sanguine, et la stimulation de la mort des lymphocytes circulants. Nous avons quantifié l'impact de la concentration d'ibrutinib sur la dynamique des lymphocytes. L'analyse des paramètres posthoc du modèle final a permis de mettre en évidence deux groupes de patients : des patients ayant une lymphocytose prolongée en début de traitement et pour lesquels l'effet de l'ibrutinib sur la mort des lymphocytes circulants est faible, et à l'inverse, ceux pour lesquels la lymphocytose est moindre alors que l'effet sur la mort est important. Ces résultats sont en concordance avec ce qui a été observé *in vitro* par une autre équipe de recherche affiliée à l'étude COMPUTREAT. De façon générale, les résultats que nous présentons dans cette thèse fournissent une solide base de modèle mathématique permettant de décrire la dynamique des lymphocytes de la LLC, avant et pendant le traitement par ibrutinib. Ce modèle pourra être complété grâce à des jeux de données plus riches incluant des données observées avant l'initiation du traitement, et des comptes de lymphocytes dans les tissus.

Enfin, dans une dernière partie, nous avons développé un modèle pharmacocinétique de l'idelalisib. Bien que basé sur un petit nombre de patients et d'observations, le modèle a permis de décrire correctement les différents profils pharmacocinétiques observés, et les résultats obtenus sont en accord avec un autre modèle précédemment publié. Nous avons notamment confirmé qu'il existait bien une diminution de la biodisponibilité avec l'augmentation de la dose.

S'agissant des perspectives à plus long terme, les modèles PK de l'ibrutinib et de l'idelalisib développés dans cette thèse pourront servir à répondre à l'objectif principal de l'étude PK-E3i s'intéressant à l'association entre les concentrations d'ibrutinib ou d'idelalisib et la survenue d'effets indésirables graves. Un modèle PK-PD permettant de décrire ces événements pourra notamment être développé. Concernant le modèle PK-PD décrivant la dynamique des lymphocytes de la LLC, il pourra être repris et complété avec d'autres données, par exemple les données d'imagerie attendues dans l'étude COMPUTREAT. Il pourra également être intéressant de décrire plus en détail les dynamiques de lymphocytes circulants précédant l'initiation du traitement par ibrutinib afin de déterminer quels sont les patients les plus à même d'être répondeurs et donc de bénéficier des effets de ce traitement.

## Références bibliographiques

1. Hallek M. Chronic lymphocytic leukemia: 2020 update on diagnosis, risk stratification and treatment. *Am J Hematol.* nov 2019;94(11):1266-87.
2. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018 - Volume 2 : Hémopathies malignes : Étude à partir des registres des cancers du réseau Francim [Internet]. [cité 16 janv 2020]. Disponible sur: <https://www.santepubliquefrance.fr/docs/estimations-nationales-de-l-incidence-et-de-la-mortalite-par-cancer-en-france-metropolitaine-entre-1990-et-2018-volume-2-hemopathies-malignes>
3. Cancer Stat Facts: Leukemia - Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) [Internet]. [cité 16 janv 2020]. Disponible sur: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/clyl.html>
4. Les LLC : points clés - La prise en charge de la leucémie lymphoïde chronique [Internet]. [cité 16 janv 2020]. Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/La-prise-en-charge-de-la-leucemie-lymphoide-chronique/Les-LLC-points-cles>
5. Chiorazzi N, Rai KR, Ferrarini M. Chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med.* 24 févr 2005;352(8):804-15.
6. Messmer BT, Messmer D, Allen SL, Kolitz JE, Kudalkar P, Cesar D, et al. In vivo measurements document the dynamic cellular kinetics of chronic lymphocytic leukemia B cells. *J Clin Invest.* mars 2005;115(3):755-64.
7. Rawstron AC, Bennett FL, O'Connor SJM, Kwok M, Fenton JAL, Plummer M, et al. Monoclonal B-cell lymphocytosis and chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med.* 7 août 2008;359(6):575-83.
8. Zhang S, Kipps TJ. The pathogenesis of chronic lymphocytic leukemia. *Annu Rev Pathol.* 2014;9:103-18.
9. Seifert M, Sellmann L, Bloehdorn J, Wein F, Stilgenbauer S, Dürig J, et al. Cellular origin and pathophysiology of chronic lymphocytic leukemia. *J Exp Med.* 19 nov 2012;209(12):2183-98.
10. Kikushige Y, Ishikawa F, Miyamoto T, Shima T, Urata S, Yoshimoto G, et al. Self-renewing hematopoietic stem cell is the primary target in pathogenesis of human chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Cell.* 16 août 2011;20(2):246-59.
11. Kikushige Y, Miyamoto T. Pre-malignant lymphoid cells arise from hematopoietic stem/progenitor cells in chronic lymphocytic leukemia. *Int J Hematol.* nov 2015;102(5):528-35.
12. Kikushige Y. Pathophysiology of chronic lymphocytic leukemia and human B1 cell development. *Int J Hematol.* 3 déc 2019;
13. Landau DA, Tausch E, Taylor-Weiner AN, Stewart C, Reiter JG, Bahlo J, et al. Mutations driving CLL and their evolution in progression and relapse. *Nature.* 22 oct 2015;526(7574):525-30.
14. Stevenson FK, Krysov S, Davies AJ, Steele AJ, Packham G. B-cell receptor signaling in chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 20 oct 2011;118(16):4313-20.

15. Chen L, Apgar J, Huynh L, Dicker F, Giago-McGahan T, Rassenti L, et al. ZAP-70 directly enhances IgM signaling in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1 mars 2005;105(5):2036-41.
16. Woyach JA, Johnson AJ, Byrd JC. The B-cell receptor signaling pathway as a therapeutic target in CLL. *Blood*. 9 août 2012;120(6):1175-84.
17. Gold MR. To make antibodies or not: signaling by the B-cell antigen receptor. *Trends Pharmacol Sci*. juill 2002;23(7):316-24.
18. Ten Hacken E, Burger JA. Microenvironment interactions and B-cell receptor signaling in Chronic Lymphocytic Leukemia: Implications for disease pathogenesis and treatment. *Biochim Biophys Acta*. mars 2016;1863(3):401-13.
19. Burger JA, Kipps TJ. Chemokine receptors and stromal cells in the homing and homeostasis of chronic lymphocytic leukemia B cells. *Leuk Lymphoma*. mars 2002;43(3):461-6.
20. Ma Q, Jones D, Springer TA. The chemokine receptor CXCR4 is required for the retention of B lineage and granulocytic precursors within the bone marrow microenvironment. *Immunity*. avr 1999;10(4):463-71.
21. Bürkle A, Niedermeier M, Schmitt-Gräff A, Wierda WG, Keating MJ, Burger JA. Overexpression of the CXCR5 chemokine receptor, and its ligand, CXCL13 in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1 nov 2007;110(9):3316-25.
22. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Döhner H, et al. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. *Blood*. 21 2018;131(25):2745-60.
23. Leucémie Lymphoïde Chronique (LLC) - Laboratoire d'Hématologie Cellulaire du CHU d'Angers [Internet]. [cité 17 janv 2020]. Disponible sur: <http://www.hematocell.fr/index.php/enseignement-de-lhematologie-cellulaire/62-enseignement-de-lhematologie-cellulaire-les-principales-maladies-hematologiques/pathologie-lymphoide/121-leucemie-lymphoide-chronique-llc>
24. Moreau EJ, Matutes E, A'Hern RP, Morilla AM, Morilla RM, Owusu-Ankomah KA, et al. Improvement of the chronic lymphocytic leukemia scoring system with the monoclonal antibody SN8 (CD79b). *Am J Clin Pathol*. oct 1997;108(4):378-82.
25. Ginaldi L, De Martinis M, Matutes E, Farahat N, Morilla R, Catovsky D. Levels of expression of CD19 and CD20 in chronic B cell leukaemias. *J Clin Pathol*. mai 1998;51(5):364-9.
26. Matutes E, Owusu-Ankomah K, Morilla R, Garcia Marco J, Houlihan A, Que TH, et al. The immunological profile of B-cell disorders and proposal of a scoring system for the diagnosis of CLL. *Leukemia*. oct 1994;8(10):1640-5.
27. Rawstron AC, Kreuzer K-A, Soosapilla A, Spacek M, Stehlikova O, Gambell P, et al. Reproducible diagnosis of chronic lymphocytic leukemia by flow cytometry: An European Research Initiative on CLL (ERIC) & European Society for Clinical Cell Analysis (ESCCA) Harmonisation project. *Cytometry B Clin Cytom*. 2018;94(1):121-8.
28. Köhnke T, Wittmann VK, Bücklein VL, Lichtenegger F, Pasalic Z, Hiddemann W, et al. Diagnosis of CLL revisited: increased specificity by a modified five-marker scoring system including CD200. *Br J Haematol*. 2017;179(3):480-7.

29. Schroers R, Griesinger F, Trümper L, Haase D, Kulle B, Klein-Hitpass L, et al. Combined analysis of ZAP-70 and CD38 expression as a predictor of disease progression in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*. mai 2005;19(5):750-8.
30. D'Arena G, Vitale C, Rossi G, Coscia M, Omedè P, D'Auria F, et al. CD200 included in a 4-marker modified Matutes score provides optimal sensitivity and specificity for the diagnosis of chronic lymphocytic leukaemia. *Hematol Oncol*. 30 mars 2018;
31. Döhner H, Stilgenbauer S, Benner A, Leupolt E, Kröber A, Bullinger L, et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 28 déc 2000;343(26):1910-6.
32. Fais F, Ghiotto F, Hashimoto S, Sellars B, Valetto A, Allen SL, et al. Chronic lymphocytic leukemia B cells express restricted sets of mutated and unmutated antigen receptors. *J Clin Invest*. 15 oct 1998;102(8):1515-25.
33. Fathollahzadeh S, Mirzaei H, Honardoost MA, Sahebkar A, Salehi M. Circulating microRNA-192 as a diagnostic biomarker in human chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Gene Ther*. oct 2016;23(10):327-32.
34. Mirzaei H, Fathollahzadeh S, Khanmohammadi R, Darijani M, Momeni F, Masoudifar A, et al. State of the art in microRNA as diagnostic and therapeutic biomarkers in chronic lymphocytic leukemia. *J Cell Physiol*. févr 2018;233(2):888-900.
35. Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, Chanana AD, Levy RN, Pasternack BS. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. août 1975;46(2):219-34.
36. Binet JL, Auquier A, Dighiero G, Chastang C, Piguët H, Goasguen J, et al. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer*. 1 juill 1981;48(1):198-206.
37. Rai KR, Montserrat E. Prognostic factors in chronic lymphocytic leukemia. *Semin Hematol*. oct 1987;24(4):252-6.
38. Cramer P, Hallek M. Prognostic factors in chronic lymphocytic leukemia-what do we need to know? *Nat Rev Clin Oncol*. janv 2011;8(1):38-47.
39. Parikh SA, Shanafelt TD. Prognostic factors and risk stratification in chronic lymphocytic leukemia. *Semin Oncol*. avr 2016;43(2):233-40.
40. Oscier DG, Matutes E, Copplestone A, Pickering RM, Chapman R, Gillingham R, et al. Atypical lymphocyte morphology: an adverse prognostic factor for disease progression in stage A CLL independent of trisomy 12. *Br J Haematol*. sept 1997;98(4):934-9.
41. Vallespi T, Montserrat E, Sanz MA. Chronic lymphocytic leukaemia: prognostic value of lymphocyte morphological subtypes. A multivariate survival analysis in 146 patients. *Br J Haematol*. avr 1991;77(4):478-85.
42. Molica S, Alberti A. Prognostic value of the lymphocyte doubling time in chronic lymphocytic leukemia. *Cancer*. 1 déc 1987;60(11):2712-6.
43. Viñolas N, Reverter JC, Urbano-Ispizua A, Montserrat E, Rozman C. Lymphocyte doubling time in chronic lymphocytic leukemia: an update of its prognostic significance. *Blood Cells*. 1987;12(2):457-70.



44. Ouillet P, Collins R, Shakhan S, Li J, Li C, Shedden K, et al. The prognostic significance of various 13q14 deletions in chronic lymphocytic leukemia. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 1 nov 2011;17(21):6778-90.
45. Strati P, Abruzzo LV, Wierda WG, O'Brien S, Ferrajoli A, Keating MJ. Second cancers and Richter transformation are the leading causes of death in patients with trisomy 12 chronic lymphocytic leukemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* juill 2015;15(7):420-7.
46. Döhner H, Fischer K, Bentz M, Hansen K, Benner A, Cabot G, et al. p53 gene deletion predicts for poor survival and non-response to therapy with purine analogs in chronic B-cell leukemias. *Blood.* 15 mars 1995;85(6):1580-9.
47. Dicker F, Herholz H, Schnittger S, Nakao A, Patten N, Wu L, et al. The detection of TP53 mutations in chronic lymphocytic leukemia independently predicts rapid disease progression and is highly correlated with a complex aberrant karyotype. *Leukemia.* janv 2009;23(1):117-24.
48. Jarošová M, Plevová K, Kotašková J, Doubek M, Pospíšilová Š. The importance of complex karyotype in prognostication and treatment of chronic lymphocytic leukemia (CLL): a comprehensive review of the literature. *Leuk Lymphoma.* oct 2019;60(10):2348-55.
49. Cortese D, Sutton L-A, Cahill N, Smedby KE, Geisler C, Gunnarsson R, et al. On the way towards a « CLL prognostic index »: focus on TP53, BIRC3, SF3B1, NOTCH1 and MYD88 in a population-based cohort. *Leukemia.* mars 2014;28(3):710-3.
50. Molica S, Giannarelli D, Mirabelli R, Levato L, Shanafelt TD. Chronic lymphocytic leukemia international prognostic index (CLL-IPI) in patients receiving chemoimmuno or targeted therapy: a systematic review and meta-analysis. *Ann Hematol.* oct 2018;97(10):2005-8.
51. Wierda WG, O'Brien S, Wang X, Faderl S, Ferrajoli A, Do K-A, et al. Prognostic nomogram and index for overall survival in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 1 juin 2007;109(11):4679-85.
52. Pflug N, Bahlo J, Shanafelt TD, Eichhorst BF, Bergmann MA, Elter T, et al. Development of a comprehensive prognostic index for patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 3 juill 2014;124(1):49-62.
53. Montserrat E, Gale RP. Predicting the outcome of patients with chronic lymphocytic leukemia: Progress and uncertainty. *Cancer.* 1 nov 2019;125(21):3699-705.
54. Drugs Approved for Leukemia [Internet]. National Cancer Institute. 2011 [cité 21 janv 2020]. Disponible sur: <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/drugs/leukemia>
55. Lemal R, Tournilhac O. State-of-the-art for CAR T-cell therapy for chronic lymphocytic leukemia in 2019. *J Immunother Cancer.* 1 août 2019;7(1):202.
56. Weide R, Feiten S, Chakupurakal G, Friesenhahn V, Kleboth K, Köppler H, et al. Survival improvement of patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL) in routine care 1995-2017. *Leuk Lymphoma.* 4 nov 2019;1-10.
57. Stephens DM. Allogeneic Stem Cell Transplantation in Chronic Lymphocytic Leukemia: An Archaic Intervention or a Necessary Evil? *Oncol Williston Park N.* juin 2016;30(6):539-40.

58. Montserrat E, Dreger P. Treatment of Chronic Lymphocytic Leukemia With del(17p)/TP53 Mutation: Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation or BCR-Signaling Inhibitors? *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2016;16 Suppl:S74-81.
59. Dighiero G, Maloum K, Desablens B, Cazin B, Navarro M, Leblay R, et al. Chlorambucil in indolent chronic lymphocytic leukemia. French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med*. 21 mai 1998;338(21):1506-14.
60. Shustik C, Mick R, Silver R, Sawitsky A, Rai K, Shapiro L. Treatment of early chronic lymphocytic leukemia: intermittent chlorambucil versus observation. *Hematol Oncol*. mars 1988;6(1):7-12.
61. Chemotherapeutic options in chronic lymphocytic leukemia: a meta-analysis of the randomized trials. CLL Trialists' Collaborative Group. *J Natl Cancer Inst*. 19 mai 1999;91(10):861-8.
62. Le Bris Y, Struski S, Guièze R, Rouvellat C, Prade N, Troussard X, et al. Major prognostic value of complex karyotype in addition to TP53 and IGHV mutational status in first-line chronic lymphocytic leukemia. *Hematol Oncol*. déc 2017;35(4):664-70.
63. Rawstron AC, Kennedy B, Evans PA, Davies FE, Richards SJ, Haynes AP, et al. Quantitation of minimal disease levels in chronic lymphocytic leukemia using a sensitive flow cytometric assay improves the prediction of outcome and can be used to optimize therapy. *Blood*. 1 juill 2001;98(1):29-35.
64. Moreton P, Kennedy B, Lucas G, Leach M, Rassam SMB, Haynes A, et al. Eradication of minimal residual disease in B-cell chronic lymphocytic leukemia after alemtuzumab therapy is associated with prolonged survival. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 mai 2005;23(13):2971-9.
65. Moreno C, Villamor N, Colomer D, Esteve J, Giné E, Muntanola A, et al. Clinical significance of minimal residual disease, as assessed by different techniques, after stem cell transplantation for chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1 juin 2006;107(11):4563-9.
66. Guideline on the use of minimal residue disease as an 4 endpoint in chronic lymphocytic leukaemia studies. :6.
67. Del Giudice I, Raponi S, Della Starza I, De Propriis MS, Cavalli M, De Novi LA, et al. Minimal Residual Disease in Chronic Lymphocytic Leukemia: A New Goal? *Front Oncol*. 2019;9:689.
68. Rawstron AC, Fazi C, Agathangelidis A, Villamor N, Letestu R, Nomdedeu J, et al. A complementary role of multiparameter flow cytometry and high-throughput sequencing for minimal residual disease detection in chronic lymphocytic leukemia: an European Research Initiative on CLL study. *Leukemia*. avr 2016;30(4):929-36.
69. Zent CS. Diagnosis and management of complications of chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma. *Acta Haematol Pol*. 28 sept 2019;50(3):91-7.
70. Williams AM, Baran AM, Meacham PJ, Feldman MM, Valencia HE, Newsom-Stewart C, et al. Analysis of the risk of infection in patients with chronic lymphocytic leukemia in the era of novel therapies. *Leuk Lymphoma*. 2018;59(3):625-32.
71. Zent CS, Ding W, Schwager SM, Reinalda MS, Hoyer JD, Jelinek DF, et al. The prognostic significance of cytopenia in chronic lymphocytic leukaemia/small lymphocytic lymphoma. *Br J Haematol*. mai 2008;141(5):615-21.

72. Kyasa MJ, Hazlett L, Parrish RS, Schichman SA, Zent CS. Veterans with chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma (CLL/SLL) have a markedly increased rate of second malignancy, which is the most common cause of death. *Leuk Lymphoma*. mars 2004;45(3):507-13.
73. Andersen MA, Moser CE, Lundgren J, Niemann CU. Epidemiology of bloodstream infections in patients with chronic lymphocytic leukemia: a longitudinal nation-wide cohort study. *Leukemia*. 2019;33(3):662-70.
74. Wadhwa PD, Morrison VA. Infectious complications of chronic lymphocytic leukemia. *Semin Oncol*. avr 2006;33(2):240-9.
75. Haute autorité de santé - La prise en charge de la leucémie lymphoïde chronique [Internet]. [cité 22 janv 2020]. Disponible sur: [https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2011-12/ald\\_30\\_gp\\_leucemie\\_lymphoide\\_web.pdf](https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2011-12/ald_30_gp_leucemie_lymphoide_web.pdf)
76. Dhalla F, Lucas M, Schuh A, Bhole M, Jain R, Patel SY, et al. Antibody deficiency secondary to chronic lymphocytic leukemia: Should patients be treated with prophylactic replacement immunoglobulin? *J Clin Immunol*. avr 2014;34(3):277-82.
77. Zheng G, Chattopadhyay S, Sud A, Sundquist K, Sundquist J, Försti A, et al. Second primary cancers in patients with acute lymphoblastic, chronic lymphocytic and hairy cell leukaemia. *Br J Haematol*. avr 2019;185(2):232-9.
78. Lenartova A, Randen U, Johannesen TB, Tjønnfjord GE. Richter syndrome epidemiology in a large population based chronic lymphocytic leukemia cohort from Norway. *Cancer Epidemiol*. 2019;60:128-33.
79. Wąsik-Szczepanek E, Szymczyk A, Szczepanek D, Wszola-Kleinrok J, Chocholska S, Pluta A, et al. Richter syndrome: A rare complication of chronic lymphocytic leukemia or small lymphocytic lymphoma. *Adv Clin Exp Med Off Organ Wroclaw Med Univ*. déc 2018;27(12):1683-9.
80. Rogers KA, Woyach JA. Secondary autoimmune cytopenias in chronic lymphocytic leukemia. *Semin Oncol*. avr 2016;43(2):300-10.
81. PubChem. Compound summary - Ibrutinib [Internet]. [cité 30 janv 2020]. Disponible sur: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/24821094>
82. Imbruvica CHMP assessment report (EMA) [Internet]. European Medicines Agency. 2018 [cité 11 févr 2020]. Disponible sur: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/imbruvica-epar-public-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/imbruvica-epar-public-assessment-report_en.pdf)
83. Vetrie D, Vorechovský I, Sideras P, Holland J, Davies A, Flinter F, et al. The gene involved in X-linked agammaglobulinaemia is a member of the src family of protein-tyrosine kinases. *Nature*. 21 janv 1993;361(6409):226-33.
84. Zi F, Yu L, Shi Q, Tang A, Cheng J. Ibrutinib in CLL/SLL: From bench to bedside (Review). *Oncol Rep*. déc 2019;42(6):2213-27.
85. Advani RH, Buggy JJ, Sharman JP, Smith SM, Boyd TE, Grant B, et al. Bruton tyrosine kinase inhibitor ibrutinib (PCI-32765) has significant activity in patients with relapsed/refractory B-cell malignancies. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 janv 2013;31(1):88-94.

86. Marostica E, Sukbuntherng J, Loury D, de Jong J, de Trixhe XW, Vermeulen A, et al. Population pharmacokinetic model of ibrutinib, a Bruton tyrosine kinase inhibitor, in patients with B cell malignancies. *Cancer Chemother Pharmacol.* janv 2015;75(1):111-21.
87. Scheers E, Leclercq L, de Jong J, Bode N, Bockx M, Laenen A, et al. Absorption, metabolism, and excretion of oral <sup>14</sup>C radiolabeled ibrutinib: an open-label, phase I, single-dose study in healthy men. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem.* févr 2015;43(2):289-97.
88. Haute Autorité de Santé - Commission de la transparence - Avis du 8 février 2017 sur l'ibrutinib [Internet]. Disponible sur: [https://www.has-sante.fr/upload/docs/evamed/CT-15633\\_IMBRUVICA\\_PIC\\_EI\\_AvisPostAud\\_CT15633.pdf](https://www.has-sante.fr/upload/docs/evamed/CT-15633_IMBRUVICA_PIC_EI_AvisPostAud_CT15633.pdf)
89. Haute Autorité de Santé - Commission de la transparence - Avis du 20 mars 2020 sur l'ibrutinib [Internet]. Disponible sur: [https://www.has-sante.fr/upload/docs/evamed/CT-18143\\_IMBRUVICA\\_PIC\\_REEV\\_AvisDef\\_CT18143.pdf](https://www.has-sante.fr/upload/docs/evamed/CT-18143_IMBRUVICA_PIC_REEV_AvisDef_CT18143.pdf)
90. O'Brien S, Furman RR, Coutre SE, Sharman JP, Burger JA, Blum KA, et al. Ibrutinib as initial therapy for elderly patients with chronic lymphocytic leukaemia or small lymphocytic lymphoma: an open-label, multicentre, phase 1b/2 trial. *Lancet Oncol.* janv 2014;15(1):48-58.
91. Coutre SE, Byrd JC, Hillmen P, Barrientos JC, Barr PM, Devereux S, et al. Long-term safety of single-agent ibrutinib in patients with chronic lymphocytic leukemia in 3 pivotal studies. *Blood Adv.* 25 2019;3(12):1799-807.
92. Wang ML, Rule S, Martin P, Goy A, Auer R, Kahl BS, et al. Targeting BTK with ibrutinib in relapsed or refractory mantle-cell lymphoma. *N Engl J Med.* 8 août 2013;369(6):507-16.
93. Byrd JC, Brown JR, O'Brien S, Barrientos JC, Kay NE, Reddy NM, et al. Ibrutinib versus ofatumumab in previously treated chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med.* 17 juill 2014;371(3):213-23.
94. Byrd JC, Hillmen P, O'Brien S, Barrientos JC, Reddy NM, Coutre S, et al. Long-term follow-up of the RESONATE phase 3 trial of ibrutinib vs ofatumumab. *Blood.* 09 2019;133(19):2031-42.
95. Munir T, Brown JR, O'Brien S, Barrientos JC, Barr PM, Reddy NM, et al. Final analysis from RESONATE: Up to six years of follow-up on ibrutinib in patients with previously treated chronic lymphocytic leukemia or small lymphocytic lymphoma. *Am J Hematol.* déc 2019;94(12):1353-63.
96. Treon SP, Tripsas CK, Meid K, Warren D, Varma G, Green R, et al. Ibrutinib in previously treated Waldenström's macroglobulinemia. *N Engl J Med.* 9 avr 2015;372(15):1430-40.
97. Farooqui MZH, Valdez J, Martyr S, Aue G, Saba N, Niemann CU, et al. Ibrutinib for previously untreated and relapsed or refractory chronic lymphocytic leukaemia with TP53 aberrations: a phase 2, single-arm trial. *Lancet Oncol.* févr 2015;16(2):169-76.
98. O'Brien S, Jones JA, Coutre SE, Mato AR, Hillmen P, Tam C, et al. Ibrutinib for patients with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukaemia with 17p deletion (RESONATE-17): a phase 2, open-label, multicentre study. *Lancet Oncol.* oct 2016;17(10):1409-18.
99. Dreyling M, Jurczak W, Jerkeman M, Silva RS, Rusconi C, Trneny M, et al. Ibrutinib versus temsirolimus in patients with relapsed or refractory mantle-cell lymphoma: an international, randomised, open-label, phase 3 study. *Lancet Lond Engl.* 20 févr 2016;387(10020):770-8.

100. Moreno C, Greil R, Demirkan F, Tedeschi A, Anz B, Larratt L, et al. Ibrutinib plus obinutuzumab versus chlorambucil plus obinutuzumab in first-line treatment of chronic lymphocytic leukaemia (iLLUMINATE): a multicentre, randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* janv 2019;20(1):43-56.
101. Burger JA, Barr PM, Robak T, Owen C, Ghia P, Tedeschi A, et al. Long-term efficacy and safety of first-line ibrutinib treatment for patients with CLL/SLL: 5 years of follow-up from the phase 3 RESONATE-2 study. *Leukemia.* 18 oct 2019;
102. Fraser G, Cramer P, Demirkan F, Silva RS, Grosicki S, Pristupa A, et al. Updated results from the phase 3 HELIOS study of ibrutinib, bendamustine, and rituximab in relapsed chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma. *Leukemia.* 2019;33(4):969-80.
103. Waller EK, Miklos D, Cutler C, Arora M, Jagasia MH, Pusic I, et al. Ibrutinib for Chronic Graft-versus-Host Disease After Failure of Prior Therapy: 1-Year Update of a Phase 1b/2 Study. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant.* oct 2019;25(10):2002-7.
104. Noy A, de Vos S, Thieblemont C, Martin P, Flowers CR, Morschhauser F, et al. Targeting Bruton tyrosine kinase with ibrutinib in relapsed/refractory marginal zone lymphoma. *Blood.* 20 2017;129(16):2224-32.
105. de Jong J, Skee D, Murphy J, Sukbuntherng J, Hellemans P, Smit J, et al. Effect of CYP3A perpetrators on ibrutinib exposure in healthy participants. *Pharmacol Res Perspect.* août 2015;3(4):e00156.
106. de Jong J, Hellemans P, De Wilde S, Patricia D, Masterson T, Manikhas G, et al. A drug-drug interaction study of ibrutinib with moderate/strong CYP3A inhibitors in patients with B-cell malignancies. *Leuk Lymphoma.* 2018;59(12):2888-95.
107. de Zwart L, Snoeys J, De Jong J, Sukbuntherng J, Mannaert E, Monshouwer M. Ibrutinib Dosing Strategies Based on Interaction Potential of CYP3A4 Perpetrators Using Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling. *Clin Pharmacol Ther.* nov 2016;100(5):548-57.
108. Lambert Kuhn E, Levêque D, Lioure B, Gourieux B, Bilbault P. Adverse event potentially due to an interaction between ibrutinib and verapamil: a case report. *J Clin Pharm Ther.* févr 2016;41(1):104-5.
109. Tapaninen T, Olkkola AM, Tornio A, Neuvonen M, Elonen E, Neuvonen PJ, et al. Itraconazole Increases Ibrutinib Exposure 10-Fold and Reduces Interindividual Variation-A Potentially Beneficial Drug-Drug Interaction. *Clin Transl Sci.* 30 oct 2019;
110. Paydas S. Management of adverse effects/toxicity of ibrutinib. *Crit Rev Oncol Hematol.* avr 2019;136:56-63.
111. Mock J, Kunk PR, Palkimas S, Sen JM, Devitt M, Horton B, et al. Risk of Major Bleeding with Ibrutinib. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2018;18(11):755-61.
112. Jones JA, Hillmen P, Coutre S, Tam C, Furman RR, Barr PM, et al. Use of anticoagulants and antiplatelet in patients with chronic lymphocytic leukaemia treated with single-agent ibrutinib. *Br J Haematol.* 2017;178(2):286-91.

113. Mato AR, Nabhan C, Barr PM, Ujjani CS, Hill BT, Lamanna N, et al. Outcomes of CLL patients treated with sequential kinase inhibitor therapy: a real world experience. *Blood*. 03 2016;128(18):2199-205.
114. Tang CPS, McMullen J, Tam C. Cardiac side effects of bruton tyrosine kinase (BTK) inhibitors. *Leuk Lymphoma*. 2018;59(7):1554-64.
115. Lampson BL, Yu L, Glynn RJ, Barrientos JC, Jacobsen ED, Banerji V, et al. Ventricular arrhythmias and sudden death in patients taking ibrutinib. *Blood*. 4 mai 2017;129(18):2581-4.
116. Byrd JC, Furman RR, Coutre SE, Burger JA, Blum KA, Coleman M, et al. Three-year follow-up of treatment-naïve and previously treated patients with CLL and SLL receiving single-agent ibrutinib. *Blood*. 16 avr 2015;125(16):2497-506.
117. Ball S, Das A, Vutthikraivit W, Edwards PJ, Hardwicke F, Short NJ, et al. Risk of Infection Associated With Ibrutinib in Patients With B-Cell Malignancies: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 1 févr 2020;20(2):87-97.e5.
118. Ghez D, Calleja A, Protin C, Baron M, Ledoux M-P, Damaj G, et al. Early-onset invasive aspergillosis and other fungal infections in patients treated with ibrutinib. *Blood*. 26 2018;131(17):1955-9.
119. Hammond SP, Chen K, Pandit A, Davids MS, Issa NC, Marty FM. Risk of hepatitis B virus reactivation in patients treated with ibrutinib. *Blood*. 26 avr 2018;131(17):1987-9.
120. Winqvist M, Askild A, Andersson PO, Karlsson K, Karlsson C, Lauri B, et al. Real-world results of ibrutinib in patients with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia: data from 95 consecutive patients treated in a compassionate use program. A study from the Swedish Chronic Lymphocytic Leukemia Group. *Haematologica*. 2016;101(12):1573-80.
121. Mato AR, Nabhan C, Thompson MC, Lamanna N, Brander DM, Hill B, et al. Toxicities and outcomes of 616 ibrutinib-treated patients in the United States: a real-world analysis. *Haematologica*. 2018;103(5):874-9.
122. Jain P, Thompson PA, Keating M, Estrov Z, Ferrajoli A, Jain N, et al. Long-term outcomes for patients with chronic lymphocytic leukemia who discontinue ibrutinib. *Cancer*. 15 juin 2017;123(12):2268-73.
123. Puła B, Gołos A, Górniak P, Jamroziak K. Overcoming Ibrutinib Resistance in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Cancers*. 21 nov 2019;11(12).
124. Furman RR, Cheng S, Lu P, Setty M, Perez AR, Perez AR, et al. Ibrutinib resistance in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 12 juin 2014;370(24):2352-4.
125. Chiron D, Di Liberto M, Martin P, Huang X, Sharman J, Bleuca P, et al. Cell-cycle reprogramming for PI3K inhibition overrides a relapse-specific C481S BTK mutation revealed by longitudinal functional genomics in mantle cell lymphoma. *Cancer Discov*. sept 2014;4(9):1022-35.
126. Woyach JA, Ruppert AS, Guinn D, Lehman A, Blachly JS, Lozanski A, et al. BTKC481S-Mediated Resistance to Ibrutinib in Chronic Lymphocytic Leukemia. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 mai 2017;35(13):1437-43.

127. Liu T-M, Woyach JA, Zhong Y, Lozanski A, Lozanski G, Dong S, et al. Hypermorphic mutation of phospholipase C,  $\gamma 2$  acquired in ibrutinib-resistant CLL confers BTK independency upon B-cell receptor activation. *Blood*. 2 juill 2015;126(1):61-8.
128. Hershkovitz-Rokah O, Pulver D, Lenz G, Shpilberg O. Ibrutinib resistance in mantle cell lymphoma: clinical, molecular and treatment aspects. *Br J Haematol*. 2018;181(3):306-19.
129. Rahal R, Frick M, Romero R, Korn JM, Kridel R, Chan FC, et al. Pharmacological and genomic profiling identifies NF- $\kappa$ B-targeted treatment strategies for mantle cell lymphoma. *Nat Med*. janv 2014;20(1):87-92.
130. Jones J, Choi MY, Mato AR, Furman RR, Davids MS, Heffner LT, et al. Venetoclax (VEN) Monotherapy for Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) Who Relapsed after or Were Refractory to Ibrutinib or Idelalisib. *Blood*. 2 déc 2016;128(22):637-637.
131. Cervantes-Gomez F, Kumar Patel V, Bose P, Keating MJ, Gandhi V. Decrease in total protein level of Bruton's tyrosine kinase during ibrutinib therapy in chronic lymphocytic leukemia lymphocytes. *Leukemia*. 2016;30(8):1803-4.
132. Chen LS, Bose P, Cruz ND, Jiang Y, Wu Q, Thompson PA, et al. A pilot study of lower doses of ibrutinib in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 22 2018;132(21):2249-59.
133. Mato AR, Timlin C, Ujjani C, Skarbnik A, Howlett C, Banerjee R, et al. Comparable outcomes in chronic lymphocytic leukaemia (CLL) patients treated with reduced-dose ibrutinib: results from a multi-centre study. *Br J Haematol*. 2018;181(2):259-61.
134. Akhtar OS, Attwood K, Lund I, Hare R, Hernandez-Ilizaliturri FJ, Torka P. Dose reductions in ibrutinib therapy are not associated with inferior outcomes in patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL). *Leuk Lymphoma*. juill 2019;60(7):1650-5.
135. Bose P, Gandhi VV, Keating MJ. Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of ibrutinib for the treatment of chronic lymphocytic leukemia: rationale for lower doses. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. nov 2016;12(11):1381-92.
136. Cheng S, Ma J, Guo A, Lu P, Leonard JP, Coleman M, et al. BTK inhibition targets in vivo CLL proliferation through its effects on B-cell receptor signaling activity. *Leukemia*. mars 2014;28(3):649-57.
137. Ponader S, Chen S-S, Buggy JJ, Balakrishnan K, Gandhi V, Wierda WG, et al. The Bruton tyrosine kinase inhibitor PCI-32765 thwarts chronic lymphocytic leukemia cell survival and tissue homing in vitro and in vivo. *Blood*. 2 févr 2012;119(5):1182-9.
138. Burger JA, Li KW, Keating MJ, Sivina M, Amer AM, Garg N, et al. Leukemia cell proliferation and death in chronic lymphocytic leukemia patients on therapy with the BTK inhibitor ibrutinib. *JCI Insight*. 26 2017;2(2):e89904.
139. de Rooij MFM, Kuil A, Geest CR, Eldering E, Chang BY, Buggy JJ, et al. The clinically active BTK inhibitor PCI-32765 targets B-cell receptor- and chemokine-controlled adhesion and migration in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 15 mars 2012;119(11):2590-4.
140. Chen S-S, Chang BY, Chang S, Tong T, Ham S, Sherry B, et al. BTK inhibition results in impaired CXCR4 chemokine receptor surface expression, signaling and function in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*. avr 2016;30(4):833-43.

141. Barrientos JC, Burger JA, Byrd JC, Hillmen P, Zhou C, Ninomoto J, et al. Characterizing the kinetics of lymphocytosis in patients with chronic lymphocytic leukemia treated with single-agent ibrutinib. *Leuk Lymphoma*. avr 2019;60(4):1000-5.
142. Herman SEM, Niemann CU, Farooqui M, Jones J, Mustafa RZ, Lipsky A, et al. Ibrutinib-induced lymphocytosis in patients with chronic lymphocytic leukemia: correlative analyses from a phase II study. *Leukemia*. nov 2014;28(11):2188-96.
143. Brown JR, Hillmen P, O'Brien S, Barrientos JC, Reddy NM, Coutre SE, et al. Extended follow-up and impact of high-risk prognostic factors from the phase 3 RESONATE study in patients with previously treated CLL/SLL. *Leukemia*. 2018;32(1):83-91.
144. Woyach JA, Smucker K, Smith LL, Lozanski A, Zhong Y, Ruppert AS, et al. Prolonged lymphocytosis during ibrutinib therapy is associated with distinct molecular characteristics and does not indicate a suboptimal response to therapy. *Blood*. 20 mars 2014;123(12):1810-7.
145. Beauvais D, Goossens J-F, Boyle E, Allal B, Lafont T, Chatelut E, et al. Development and validation of an UHPLC-MS/MS method for simultaneous quantification of ibrutinib and its dihydrodiol-metabolite in human cerebrospinal fluid. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 1 sept 2018;1093-1094:158-66.
146. de Vries R, Huang M, Bode N, Jejurkar P, Jong J de, Sukbuntherng J, et al. Bioanalysis of ibrutinib and its active metabolite in human plasma: selectivity issue, impact assessment and resolution. *Bioanalysis*. 2015;7(20):2713-24.
147. Huynh HH, Pressiat C, Sauvageon H, Madelaine I, Maslanka P, Lebbé C, et al. Development and Validation of a Simultaneous Quantification Method of 14 Tyrosine Kinase Inhibitors in Human Plasma Using LC-MS/MS. *Ther Drug Monit*. 2017;39(1):43-54.
148. Yasu T, Momo K, Yasui H, Kuroda S. Simple determination of plasma ibrutinib concentration using high-performance liquid chromatography. *Biomed Chromatogr*. 2019;33(3):e4435.
149. Veeraraghavan S, Viswanadha S, Thappali S, Govindarajulu B, Vakkalanka S, Rangasamy M. Simultaneous quantification of lenalidomide, ibrutinib and its active metabolite PCI-45227 in rat plasma by LC-MS/MS: application to a pharmacokinetic study. *J Pharm Biomed Anal*. 25 mars 2015;107:151-8.
150. Sun S, Cheng D, Kong S, Li X, Li T, Yu Q, et al. A rapid and sensitive method for quantification of ibrutinib in rat plasma by UPLC–ESI–MS/MS: validation and application to pharmacokinetic studies of a novel ibrutinib nanocrystalline. *Biomed Chromatogr*. 2020;34(1):e4703.
151. Rood JJM, van Hoppe S, Schinkel AH, Schellens JHM, Beijnen JH, Sparidans RW. Liquid chromatography-tandem mass spectrometric assay for the simultaneous determination of the irreversible BTK inhibitor ibrutinib and its dihydrodiol-metabolite in plasma and its application in mouse pharmacokinetic studies. *J Pharm Biomed Anal*. 25 janv 2016;118:123-31.
152. A new approach to identifying unknown trace level analytes by tandem mass spectrometry without reference spectroscopic database [Internet]. *Spectroscopy Europe/Asia*. John Wiley & Sons Ltd and IM Publications LLP; [cité 4 mai 2020]. Disponible sur: <https://www.spectroscopyeurope.com/td-column/new-approach-identifying-unknown-trace-level-analytes-tandem-mass-spectrometry-without>



153. PubChem. Compound summary - Idelalisib [Internet]. [cité 28 févr 2020]. Disponible sur: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/11625818>
154. Zydelig CHMP assessment report (EMA) [Internet]. European Medicines Agency. 2018 [cité 28 févr 2020]. Disponible sur: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/zydelig-epar-public-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/zydelig-epar-public-assessment-report_en.pdf)
155. Ramanathan S, Jin F, Sharma S, Kearney BP. Clinical Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Profile of Idelalisib. *Clin Pharmacokinet*. 1 janv 2016;55(1):33-45.
156. De Santis MC, Gulluni F, Campa CC, Martini M, Hirsch E. Targeting PI3K signaling in cancer: Challenges and advances. *Biochim Biophys Acta BBA - Rev Cancer*. 1 avr 2019;1871(2):361-6.
157. Lannutti BJ, Meadows SA, Herman SEM, Kashishian A, Steiner B, Johnson AJ, et al. CAL-101, a p110 $\delta$  selective phosphatidylinositol-3-kinase inhibitor for the treatment of B-cell malignancies, inhibits PI3K signaling and cellular viability. *Blood*. 13 janv 2011;117(2):591-4.
158. Yuan T, Cantley L. PI3K pathway alterations in cancer: variations on a theme. *Oncogene*. 18 sept 2008;27(41):5497-510.
159. Fruman DA, Rommel C. PI3K and Cancer: Lessons, Challenges and Opportunities. *Nat Rev Drug Discov*. févr 2014;13(2):140-56.
160. Jin F, Gao Y, Zhou H, Fang L, Li X, Ramanathan S. Population pharmacokinetic modeling of idelalisib, a novel PI3K $\delta$  inhibitor, in healthy subjects and patients with hematologic malignancies. *Cancer Chemother Pharmacol*. janv 2016;77(1):89-98.
161. Do B, Mace M, Rexwinkle A. Idelalisib for treatment of B-cell malignancies. *Am J Health-Syst Pharm AJHP Off J Am Soc Health-Syst Pharm*. 15 avr 2016;73(8):547-55.
162. Jin F, Robeson M, Zhou H, Hisoire G, Ramanathan S. The pharmacokinetics and safety of idelalisib in subjects with severe renal impairment. *Cancer Chemother Pharmacol*. déc 2015;76(6):1133-41.
163. Jin F, Robeson M, Zhou H, Hisoire G, Ramanathan S. The pharmacokinetics and safety of idelalisib in subjects with moderate or severe hepatic impairment. *J Clin Pharmacol*. août 2015;55(8):944-52.
164. Cheah CY, Fowler NH. Idelalisib in the management of lymphoma. *Blood*. 21 2016;128(3):331-6.
165. Flinn IW, Kahl BS, Leonard JP, Furman RR, Brown JR, Byrd JC, et al. Idelalisib, a selective inhibitor of phosphatidylinositol 3-kinase- $\delta$ , as therapy for previously treated indolent non-Hodgkin lymphoma. *Blood*. 29 mai 2014;123(22):3406-13.
166. Gopal AK, Kahl BS, de Vos S, Wagner-Johnston ND, Schuster SJ, Jurczak WJ, et al. PI3K $\delta$  inhibition by idelalisib in patients with relapsed indolent lymphoma. *N Engl J Med*. 13 mars 2014;370(11):1008-18.
167. Furman RR, Sharman JP, Coutre SE, Cheson BD, Pagel JM, Hillmen P, et al. Idelalisib and rituximab in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 13 mars 2014;370(11):997-1007.
168. Sharman JP, Coutre SE, Furman RR, Cheson BD, Pagel JM, Hillmen P, et al. Final Results of a Randomized, Phase III Study of Rituximab With or Without Idelalisib Followed by Open-Label

- Idelalisib in Patients With Relapsed Chronic Lymphocytic Leukemia. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 juin 2019;37(16):1391-402.
169. O'Brien SM, Lamanna N, Kipps TJ, Flinn I, Zelenetz AD, Burger JA, et al. A phase 2 study of idelalisib plus rituximab in treatment-naïve older patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 17 déc 2015;126(25):2686-94.
  170. Coutre SE, Flinn IW, de Vos S, Barrientos JC, Schreeder MT, Wagner-Johnson ND, et al. Idelalisib in Combination With Rituximab or Bendamustine or Both in Patients With Relapsed/Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia. *HemaSphere*. juin 2018;2(3):e39.
  171. de Vos S, Wagner-Johnston ND, Coutre SE, Flinn IW, Schreeder MT, Fowler NH, et al. Combinations of idelalisib with rituximab and/or bendamustine in patients with recurrent indolent non-Hodgkin lymphoma. *Blood Adv*. 13 déc 2016;1(2):122-31.
  172. Lampson BL, Kim HT, Davids MS, Abramson JS, Freedman AS, Jacobson CA, et al. Efficacy results of a phase 2 trial of first-line idelalisib plus ofatumumab in chronic lymphocytic leukemia. *Blood Adv*. 09 2019;3(7):1167-74.
  173. Jones JA, Robak T, Brown JR, Awan FT, Badoux X, Coutre S, et al. Efficacy and safety of idelalisib in combination with ofatumumab for previously treated chronic lymphocytic leukaemia: an open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Haematol*. mars 2017;4(3):e114-26.
  174. Jin F, Robeson M, Zhou H, Moyer C, Wilbert S, Murray B, et al. Clinical drug interaction profile of idelalisib in healthy subjects. *J Clin Pharmacol*. 2015;55(8):909-19.
  175. Driscoll N. Idelalisib: Practical Tools for Identifying and Managing Adverse Events in Clinical Practice. *J Adv Pract Oncol*. oct 2016;7(6):604-13.
  176. Coutre SE, Barrientos JC, Brown JR, de Vos S, Furman RR, Keating MJ, et al. Management of adverse events associated with idelalisib treatment: expert panel opinion. *Leuk Lymphoma*. 2015;56(10):2779-86.
  177. Cuneo A, Barosi G, Danesi R, Fagioli S, Ghia P, Marzano A, et al. Management of adverse events associated with idelalisib treatment in chronic lymphocytic leukemia and follicular lymphoma: A multidisciplinary position paper. *Hematol Oncol*. févr 2019;37(1):3-14.
  178. Flinn IW, O'Brien S, Kahl B, Patel M, Oki Y, Foss FF, et al. Duvelisib, a novel oral dual inhibitor of PI3K- $\delta,\gamma$ , is clinically active in advanced hematologic malignancies. *Blood*. 22 févr 2018;131(8):877-87.
  179. Bange E, Nabhan C, Brander DM, Lamanna N, Ujjani CS, Howlett C, et al. Real-World Evidence for Durable Treatment Responses after Toxicity Related Discontinuation of Idelalisib. *Blood*. 7 déc 2017;130(Supplement 1):4325-4325.
  180. Bird ST, Tian F, Flowers N, Przepiorka D, Wang R, Jung T-H, et al. Idelalisib for Treatment of Relapsed Follicular Lymphoma and Chronic Lymphocytic Leukemia: A Comparison of Treatment Outcomes in Clinical Trial Participants vs Medicare Beneficiaries. *JAMA Oncol*. 19 déc 2019;
  181. Coutre S, Choi M, Furman RR, Eradat H, Heffner L, Jones JA, et al. Venetoclax for patients with chronic lymphocytic leukemia who progressed during or after idelalisib therapy. *Blood*. 12 avr 2018;131(15):1704-11.

182. Veeraraghavan S, Thappali S, Viswanadha S, Nalla S, Chennupati S, Golla M, et al. Simultaneous quantification of idelalisib, fludarabine and lenalidomide in rat plasma by using high-performance liquid chromatography coupled with heated electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 15 févr 2014;949-950:63-9.
183. Wang C, Jia F, Zhang Y. Simultaneous determination of idelalisib and its metabolite GS-563117 in dog plasma by LC-MS/MS: Application to a pharmacokinetic study. *Biomed Chromatogr BMC*. mai 2019;33(5):e4511.
184. Huynh HH, Roessle C, Sauvageon H, Plé A, Madelaine I, Thieblemont C, et al. Quantification of Idelalisib in Human Plasma by Ultra-Performance Liquid Chromatography Coupled to Mass Spectrometry in Negative Ionization Mode. *Ther Drug Monit*. 2018;40(2):237-44.
185. Sheiner LB, Rosenberg B, Melmon KL. Modelling of individual pharmacokinetics for computer-aided drug dosage. *Comput Biomed Res*. 1 oct 1972;5(5):441-59.
186. ANTIC J. Méthodes non-paramétriques en Pharmacocinétique et/ou Pharmacodynamie de population [Internet]. Université Toulouse III - Paul Sabatier; 2009. Disponible sur: [http://thesesups.ups-tlse.fr/935/1/Antic\\_Julie.pdf](http://thesesups.ups-tlse.fr/935/1/Antic_Julie.pdf)
187. Simeoni M, Magni P, Cammia C, De Nicolao G, Croci V, Pesenti E, et al. Predictive pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of tumor growth kinetics in xenograft models after administration of anticancer agents. *Cancer Res*. 1 févr 2004;64(3):1094-101.
188. Friberg LE, Henningsson A, Maas H, Nguyen L, Karlsson MO. Model of chemotherapy-induced myelosuppression with parameter consistency across drugs. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 15 déc 2002;20(24):4713-21.
189. Bourguignon L. Modélisation pharmacocinétique-pharmacodynamique et techniques de simulation appliquées à l'évaluation de stratégies thérapeutiques en infectiologie. Université Claude Bernard - Lyon I, 2009. Français. NNT : 2009LYO10243. tel-00860853;
190. Urien S. La pharmacocinétique de population, aspects fondamentaux. 2003;17:6.
191. Mould DR, Upton RN. Basic Concepts in Population Modeling, Simulation, and Model-Based Drug Development—Part 2: Introduction to Pharmacokinetic Modeling Methods. *CPT Pharmacomet Syst Pharmacol*. avr 2013;2(4):e38.
192. Urien S. Approches de population et modélisation en pharmacologie. 2002;16:3.
193. Comets E. Etude de la réponse aux médicaments par la modélisation des relations dose-concentration-effet. Université Paris-Diderot - Paris VII, 2010. tel-00482970;
194. Simon N. Analyse pharmacocinétique et pharmacodynamique par approche de population. SOLAL. 2011. (Pharmacologie médicale).
195. Sheiner LB, Rosenberg B, Marathe VV. Estimation of population characteristics of pharmacokinetic parameters from routine clinical data. *J Pharmacokinet Biopharm*. oct 1977;5(5):445-79.
196. Lindstrom MJ, Bates DM. Nonlinear Mixed Effects Models for Repeated Measures Data. *Biometrics*. 1990;46(3):673-87.
197. Wolfinger R. Laplace's Approximation for Nonlinear Mixed Models. *Biometrika*. 1993;80(4):791-5.

198. Sheiner LB, Beal S, Rosenberg B, Marathe VV. Forecasting individual pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther.* 1979;26(3):294-305.
199. Savic RM, Karlsson MO. Importance of Shrinkage in Empirical Bayes Estimates for Diagnostics: Problems and Solutions. *AAPS J.* 1 août 2009;11(3):558-69.
200. Nguyen T, Mouksassi M, Holford N, Al-Huniti N, Freedman I, Hooker A, et al. Model Evaluation of Continuous Data Pharmacometric Models: Metrics and Graphics. *CPT Pharmacomet Syst Pharmacol.* févr 2017;6(2):87-109.
201. Karlsson MO, Savic RM. Diagnosing Model Diagnostics. *Clin Pharmacol Ther.* 2007;82(1):17-20.
202. Efron B. Bootstrap Methods: Another Look at the Jackknife. *Ann Stat.* janv 1979;7(1):1-26.
203. Dosne A-G, Bergstrand M, Harling K, Karlsson MO. Improving the estimation of parameter uncertainty distributions in nonlinear mixed effects models using sampling importance resampling. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* déc 2016;43(6):583-96.
204. Sheiner LB. Analysis of pharmacokinetic data using parametric models. III. Hypothesis tests and confidence intervals. *J Pharmacokinet Biopharm.* 1 oct 1986;14(5):539-55.
205. Bergstrand M, Hooker AC, Wallin JE, Karlsson MO. Prediction-Corrected Visual Predictive Checks for Diagnosing Nonlinear Mixed-Effects Models. *AAPS J.* 1 juin 2011;13(2):143-51.
206. Sheiner LB, Beal SL. Some suggestions for measuring predictive performance. *J Pharmacokinet Biopharm.* août 1981;9(4):503-12.
207. Brendel K, Dartois C, Comets E, Lemenuel-Diot A, Laveille C, Tranchand B, et al. Are population pharmacokinetic and/or pharmacodynamic models adequately evaluated? A survey of the literature from 2002 to 2004. *Clin Pharmacokinet.* 2007;46(3):221-34.
208. Niiri H, Clark EA. Regulation of B-cell fate by antigen-receptor signals. *Nat Rev Immunol.* déc 2002;2(12):945-56.
209. imbruvica-epar-public-assessment-report\_en.pdf [Internet]. [cité 1 oct 2018]. Disponible sur: [https://www.ema.europa.eu/documents/assessment-report/imbruvica-epar-public-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/documents/assessment-report/imbruvica-epar-public-assessment-report_en.pdf)
210. Gruber M, Bozic I, Leshchiner I, Livitz D, Stevenson K, Rassenti L, et al. Growth dynamics in naturally progressing chronic lymphocytic leukaemia. *Nature.* juin 2019;570(7762):474-9.
211. Wodarz D, Garg N, Komarova NL, Benjamini O, Keating MJ, Wierda WG, et al. Kinetics of CLL cells in tissues and blood during therapy with the BTK inhibitor ibrutinib. *Blood.* 26 juin 2014;123(26):4132-5.
212. ZYDELIG (idélalisib) : nouvelles recommandations d'application immédiate [Internet]. VIDAL. [cité 7 mai 2020]. Disponible sur: [https://www.vidal.fr/actualites/19394/zydelig\\_idelalisib\\_nouvelles\\_recommandations\\_d\\_application\\_immediate/](https://www.vidal.fr/actualites/19394/zydelig_idelalisib_nouvelles_recommandations_d_application_immediate/)
213. Réévaluation de ZYDELIG (idelalisib) : nouvelles modalités d'utilisation [Internet]. VIDAL. [cité 7 mai 2020]. Disponible sur:

[https://www.vidal.fr/actualites/19901/reevaluation\\_de\\_zydelig\\_idelalisib\\_nouvelles\\_modalites\\_d\\_utilisation/](https://www.vidal.fr/actualites/19901/reevaluation_de_zydelig_idelalisib_nouvelles_modalites_d_utilisation/)

214. Fratoni S, Zanelli M, Zizzo M, Sanguedolce F, Aimola V, Cerrone G, et al. The broad landscape of follicular lymphoma: Part I. *Pathologica*. mars 2020;112(1):1-16.
215. Gopal AK, Kahl BS, Flowers CR, Martin P, Ansell SM, Abella-Dominicis E, et al. Idelalisib is effective in patients with high-risk follicular lymphoma and early relapse after initial chemoimmunotherapy. *Blood*. 01 2017;129(22):3037-9.
216. Farber S, Diamond LK, Mercer RD, Sylvester RF, Wolff JA. Temporary Remissions in Acute Leukemia in Children Produced by Folic Acid Antagonist, 4-Aminopteroyl-Glutamic Acid (Aminopterin). *N Engl J Med*. 3 juin 1948;238(23):787-93.
217. Weinblatt ME, Coblyn JS, Fox DA, Fraser PA, Holdsworth DE, Glass DN, et al. Efficacy of low-dose methotrexate in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*. 28 mars 1985;312(13):818-22.
218. Hannood M, Mittal M. Methotrexate. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 [cité 19 mai 2020]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556114/>
219. Howard SC, McCormick J, Pui C-H, Buddington RK, Harvey RD. Preventing and Managing Toxicities of High-Dose Methotrexate. *The Oncologist*. déc 2016;21(12):1471-82.
220. Inoue K, Yuasa H. Molecular basis for pharmacokinetics and pharmacodynamics of methotrexate in rheumatoid arthritis therapy. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2014;29(1):12-9.
221. Bedoui Y, Guillot X, Sélambarom J, Guiraud P, Giry C, Jaffar-Bandjee MC, et al. Methotrexate an Old Drug with New Tricks. *Int J Mol Sci* [Internet]. 10 oct 2019 [cité 19 mai 2020];20(20). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6834162/>
222. Gallais F, Oberic L, Faguer S, Tavitian S, Lafont T, Marsili S, et al. Body Surface Area Dosing of High-Dose Methotrexate Should be Reconsidered, Particularly in Overweight, Adult Patients. *Ther Drug Monit*. 10 sept 2020;
223. Buclin T, Thoma Y, Widmer N, André P, Guidi M, Csajka C, et al. The Steps to Therapeutic Drug Monitoring: A Structured Approach Illustrated With Imatinib. *Front Pharmacol*. 2020;11:177.
224. Clarke W. Chapter 1 - Overview of Therapeutic Drug Monitoring. In: Clarke W, Dasgupta A, éditeurs. *Clinical Challenges in Therapeutic Drug Monitoring* [Internet]. San Diego: Elsevier; 2016 [cité 20 mai 2020]. p. 1-15. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128020258000015>
225. Sheiner LB, Halkin H, Peck C, Rosenberg B, Melmon KL. Improved computer-assisted digoxin therapy. A method using feedback of measured serum digoxin concentrations. *Ann Intern Med*. mai 1975;82(5):619-27.
226. Ramsey LB, Balis FM, O'Brien MM, Schmiegelow K, Pauley JL, Bleyer A, et al. Consensus Guideline for Use of Glucarpidase in Patients with High-Dose Methotrexate Induced Acute Kidney Injury and Delayed Methotrexate Clearance. *The Oncologist*. 2018;23(1):52-61.
227. Schwartz S, Borner K, Müller K, Martus P, Fischer L, Korfel A, et al. Glucarpidase (Carboxypeptidase G2) Intervention in Adult and Elderly Cancer Patients with Renal Dysfunction and Delayed

- Methotrexate Elimination After High-Dose Methotrexate Therapy. *The Oncologist*. 2007;12(11):1299-308.
228. Cavone JL, Yang D, Wang A. Glucarpidase Intervention for Delayed Methotrexate Clearance. *Ann Pharmacother*. juill 2014;48(7):897-907.
229. METHOTREXATE ACCORD 25 mg/ml, solution injectable - Résumé des Caractéristiques du Produit [Internet]. [cité 20 mai 2020]. Disponible sur: <http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/rcp/R0285887.htm>
230. Gurney H, Shaw R. Obesity in dose calculation: a mouse or an elephant? *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 20 oct 2007;25(30):4703-4.
231. Kaestner SA, Sewell GJ. Chemotherapy dosing part I: scientific basis for current practice and use of body surface area. *Clin Oncol R Coll Radiol G B*. févr 2007;19(1):23-37.

## Annexes

### 1 Control stream NONMEM du modèle PK ibrutinib

```
;Project Name : Modele PK IBRUTINIB PKE3i
$SIZES PD=-100
$PROB RUN# 1
$INPUT ID MONTH DAY DAT1=DROP TIME TIME2 TAD AMT RATE SS II DVNO DV EVID MDV M
DVNOLOQ CMT TYPE GENO3A4 GENO3A5 PHENO AGE SEX WT HT IMC BSA LEUCO NEUTRO LYMP
HO HG PLAQ ASAT ALAT CLCREAT LDH BLB LTCD4 GGT MONOCYTES LTCD8 STADEPATH GRADE
OMS GREFFEC SH PATH AGEDIAG TABAC ALCOOL TRTANTE BINET SB DEL17P DEL11Q TP53 IG
VH CARYO ADENO
$DATA ../../DATA/data_ibrutinib_NONMEM_23042019_TAD.csv
IGNORE=@
IGNORE=(MONTH.GT.6)

$SUBROUTINES ADVAN5 SS5

$MODEL
COMP=(DEPOT,DEFDOSE)
COMP=(IBRU_CENT,DEFOPS)
COMP=(IBRU_PERIPH)
COMP=(DHDIBRU)
COMP=(DHDIBRU_PERIPH)

$PK
OCC1=0
OCC2=0
OCC3=0
OCC6=0
IF(MONTH.EQ.1) OCC1=1
IF(MONTH.EQ.2) OCC2=1
IF(MONTH.EQ.3) OCC3=1
IF(MONTH.EQ.6) OCC6=1

;IBRU
CLMET=THETA(1)*EXP(ETA(6))
V2=THETA(2)*EXP(ETA(2))
KA=THETA(3)
Q=THETA(4)
V3=THETA(5)*EXP(ETA(1))
ALAG1=THETA(6)*EXP(ETA(7))
D1=THETA(7)*EXP(ETA(8))
CLIBRU=THETA(8)*EXP(ETA(4)+ETA(9)*OCC1+ETA(10)*OCC2+ETA(11)*OCC3+ETA(12)*OCC6)
```

```

;DHD-IBRU
CLDHD=THETA(9)*EXP(ETA(3)+ETA(13)*OCC1+ETA(14)*OCC2+ETA(15)*OCC3+ETA(16)*OCC6)
V4=V2
V5=V3
K14=THETA(10)*EXP(ETA(5))
QDHD=THETA(11)

K12=KA
K23=Q/V2
K32=Q/V3
K24=CLMET/V2
K40=CLDHD/V4
K20=CLIBRU/V2
K45=QDHD/V4
K54=QDHD/V5

S2=V2/1000
S4=V4/1000

$ERROR
DEL=0
IF (F.EQ.0) DEL=1
W=F+DEL
IF(CMT.EQ.2) Y=F+W*EPS(1)
IF(CMT.EQ.4) Y=F+W*EPS(2)
IPRED=F
IRES=DV-IPRED
IWRES=IRES/W

$THETA
(0, 148) ; CLMET
(0, 1010) ; V2
(0, 1.58) ; KA
(0, 178) ; Q
(0, 1480) ; V3
(0, 0.242) ; ALAG1
(0, 1.01) ; D1
(0, 241) ; CLIBRU
(0, 184) ; CL_DHD
(0, 1.23) ; K14
(0, 49.8) ; QDHD

$OMEGA BLOCK(6)
0.461 ; iiv V3
0.455 0.557 ; iiv V2
0.223 0.233 0.229 ; iiv CLDHD
0.388 0.454 0.206 0.394 ; iiv CLIBRU
0.301 0.306 0.16 0.261 0.348 ; iiv K14
0 0.000576 0.172 0.024 0.126 0.325 ; iiv CLMET

```



```

$OMEGA BLOCK(2)
  0.491 ; iiv ALAG1
  0.274 0.856 ; iiv D1
$OMEGA BLOCK(1) 0.198 ;IOV CLIBRU
$OMEGA BLOCK(1) SAME ;IOV CLIBRU
$OMEGA BLOCK(1) SAME ;IOV CLIBRU
$OMEGA BLOCK(1) SAME ;IOV CLIBRU
$OMEGA BLOCK(1) 0.0707 ;IOV CLDHD
$OMEGA BLOCK(1) SAME ;IOV CLDHD
$OMEGA BLOCK(1) SAME ;IOV CLDHD
$OMEGA BLOCK(1) SAME ;IOV CLDHD

```

```

$SIGMA
  0.139
  0.0651

```

```

$ESTIMATION METHOD=1 INTERACTION MAXEVAL=9999 SIGDIGITS=3 NOABORT MSFO=1.ms
$COV MATRIX=S

```

```

$TABLE ID AMT MONTH DAY TIME TIME2 TAD TYPE AMT DV MDV EVID IPRED PRED IWRES
CWRES NPDE CLMET V2 KA Q QDHD V3 ALAG1 CLDHD CLIBRU D1 K14 GENO3A4 GENO3A5
PHENO AGE SEX WT HT IMC BSA LEUCO NEUTRO LYMPHO HG PLAQ ASAT ALAT CLCREAT LDH
BLB LTCD4 GGT MONOCYTES LTCD8 STADEPATH GRADEOMS GREFFEC SH PATH AGEDIAG TABAC
ALCOOL TRTANTE BINET SB DEL17P DEL11Q TP53 IGVH CARYO NOPRINT NOAPPEND ONEHEAD
ER FORMAT=S1PE11.5 FILE=alltab1

```

## 2 Control stream NONMEM du modèle PK-PD ibrutinib

```
;Project Name : Modele PKPD IBRUTINIB
$PROB RUN# 18.2b
$INPUT ID MONTHPK TIMEPK TIME MONTH DOSE AMT RATE ADDL II DV MDV EVID CMT GROU
P D1I ALAG1I KADHDI V2I V3I CLIBRUI CLDHDI CLMETI PATH GROUPTT ADMIBRU ADMIBRU
2 DOUBLON GRPLYMPHO TADFIRST CMOYi
$DATA ../../DATA/data_lymphocytes_including_preTT_030320_CMOYMODEL.csv
IGNORE=@
IGNORE=(PATH.NE.1)
IGNORE=(DOUBLON.EQ.1)
IGNORE=(CMT.EQ.3)

$SUBROUTINES ADVAN6 TOL=4

$MODEL
;PD MODEL
COMP=(TISSUE)
COMP=(BLOOD)

$PK
;PD PARAMETERS
KPROL=THETA(1)*EXP(ETA(1))
KOUT=THETA(2)*EXP(ETA(2))
KDEATH=THETA(3)*EXP(ETA(3))
OFFSET2=THETA(4)*EXP(ETA(4))
BASE2=THETA(5)*EXP(ETA(5))
coeff=THETA(6)*EXP(ETA(6))
BASE1=coeff*BASE2
KLOG=THETA(7)*EXP(ETA(7))

F1=BASE1
F2=BASE2

;PKPD PARAMETERS
SO=THETA(8)*EXP(ETA(8))
SD=THETA(9)*EXP(ETA(9))

$DES

IF (ADMIBRU.EQ.0) THEN
  CONC=0
  DRUGOUT=0
  DRUGDTH=0
ELSE
  CONC=CMOYi
  DRUGOUT=SO*CONC
```

```

DRUGDTH=SD*CONC
ENDIF

;PD DESCRIPTION
IF(KLOG.EQ.0) KLOG=1
DADT(1)=KPROL*A(1)*((KLOG-A(1))/KLOG)-KOUT*A(1)*(1+DRUGOUT)
DADT(2)=KOUT*A(1)*(1+DRUGOUT)-KDEATH*(1+DRUGDTH)*(A(2)-OFFSET2)

$ERROR
DEL=0
IF (F.EQ.0) DEL=1
W=F+DEL
Y=F+W*EPS(1)
IPRED=F
IRES=DV-IPRED
IWRES=IRES/W

$THETA
(0, 0.0041) ; KPROL
(0, 0.00291) ; KOUT
(0, 0.0104) ; KDEATH
(0, 2.64) ; OFF2
(0, 41.3) ; BASE2
(0, 5.16) ; coeff
(1, 4450) ; KLOG
(0, 0.15) ; SO
(0, 0.097) ; SD

$OMEGA
0 FIX ; KPROL
0 FIX ; KOUT
0 FIX ; KDEATH
1.06 ; OFF2
1.99 ; BASE2
0.541 ; coeff
0 FIX ; KLOG
0.518 ; SO
1.6 ; SD

$SIGMA
0.0622

$ESTIMATION METHOD=1 INTERACTION MAXEVAL=9999 SIGDIGITS=3 NOABORT MSFO=18.2b.ms
sf
$COV matrix=S
$TABLE ID TIME TIMEPK TADFIRST AMT DV MDV EVID CMT IPRED PRED CWRES KPROL KOUT
KLOG KDEATH BASE1 BASE2 SD coeff GRPLYMPHO GROUPTT CMOYi SO NOPRINT NOAPPEND
ONEHEADER FORMAT=S1PE11.5 FILE=alltab18.2b

```

### 3 Control stream NONMEM du modèle PK idelalisib

```
;Project Name : IBRUTINIB
$PROB RUN# 10
$INPUT ID MONTH DAY DAT1=DROP TIME TAD AMT ADDL II DV EVID MDV CMT DOSE
$DATA .././DATA/data_idelalisib_NONMEM_02072019_ALL_TAD_COV_final.csv
IGNORE=@

$SUBROUTINES ADVAN4 TRANS4

$PK
OCC1=0
OCC2=0
OCC3=0
OCC6=0
OCC12=0
IF (MONTH.EQ.1) OCC1=1
IF (MONTH.EQ.2) OCC2=1
IF (MONTH.EQ.3) OCC3=1
IF (MONTH.EQ.6) OCC6=1
IF (MONTH.EQ.12) OCC12=1

CL=THETA(1)*EXP(ETA(1)+ETA(7)*OCC1+ETA(8)*OCC2+ETA(9)*OCC3+ETA(10)*OCC6+ETA(11)
)*OCC12)
V2=THETA(2)*EXP(ETA(2))
KA=THETA(3)*EXP(ETA(3))
Q=THETA(4)*EXP(ETA(4))
V3=THETA(5)*EXP(ETA(5))
ALAG1=THETA(6)*EXP(ETA(6))
F1=exp(THETA(7)*log(DOSE/150))

S2=V2/1000

$ERROR
DEL=0
IF (F.EQ.0) DEL=1
W=F+DEL
Y=F+W*EPS(1)
IPRED=F
IRES=DV-IPRED
IWRES=IRES/W

$THETA
(0, 10.4) ; CL
(0, 11.4) ; V2
(0, 0.479) ; KA
(0, 8.74) ; Q
(0, 92.9) ; V3
```

```
(0, 0.352) ; ALAG1  
(-0.2) ; biodisp
```

```
$OMEGA
```

```
0.108 ; iiv CL  
0.2 ; iiv V2  
0 FIX ; iiv KA  
0.2 ; iiv Q  
0 FIX ; iiv V3  
0.467 ; iiv ALAG1  
$OMEGA BLOCK(1) 0.161 ;IOV CL  
$OMEGA BLOCK(1) SAME ;IOV CL  
$OMEGA BLOCK(1) SAME ;IOV CL  
$OMEGA BLOCK(1) SAME ;IOV CL  
$OMEGA BLOCK(1) SAME ;IOV CL
```

```
$SIGMA
```

```
0.042
```

```
$ESTIMATION METHOD=1 INTERACTION MAXEVAL=9999 SIGDIGITS=3 NOABORT MSFO=10.ms  
$COV matrix=S
```

```
$TABLE ID MONTH DAY TIME AMT ADDL II DV EVID MDV CMT IPRED PRED IWRES CWRES NP  
DE CL V2 KA Q V3 NOPRINT NOAPPEND ONEHEADER FORMAT=,F8.2 FILE=alltab10
```

## 4 Liste des publications et communications scientifiques

### Publications dans des revues internationales

**Gallais F**, Pétaïn A, Desrivot J, Pavluk M, Akla B, Boullay E, Couffin S, Didier E, Del Frari L. PK-PD modelling of the antibody drug conjugate W0101 in xenograft mice for clinical efficacious dose prediction. [En cours de soumission]

**Gallais F**, Ysebaert L, Despas F, De Barros S, Dupré L, Obéric L, Allal B, Chatelut E, White-Koning M. Population pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling of circulating lymphocyte dynamics in chronic lymphocytic leukemia patients under ibrutinib treatment. [En cours de soumission]

**Gallais F**, Oberic L, Faguer S, Tavitian S, Lafont T, Marsili S, et al. Body Surface Area Dosing of High-Dose Methotrexate Should be Reconsidered, Particularly in Overweight, Adult Patients. *Ther Drug Monit.* 2020 Sep 10;

**Gallais F**, Ysebaert L, Despas F, De Barros S, Dupré L, Quillet-Mary A, et al. Population Pharmacokinetics of Ibrutinib and Its Dihydrodiol Metabolite in Patients with Lymphoid Malignancies. *Clin Pharmacokinet.* 2020 Sep;59(9):1171–83.

**Gallais F**, Marsot A, **Gallais F**, Galambrun C, Coze C, Blin O, Andre N, et al. Vancomycin in Pediatric Patients with Solid or Hematological Malignant Disease: Predictive Performance of a Population Pharmacokinetic Model and New Optimized Dosing Regimens. *Paediatr Drugs.* 2018 Aug;20(4):375–81.

### Communications orales dans des congrès internationaux

**Gallais F**, Ysebaert L, Despas F, De Barros S, Dupré L, Quillet-Mary A, Oberic L, Allal B, Chatelut E, White-Koning M. Population pharmacodynamics modelling of circulating lymphocyte dynamics in chronic lymphocytic leukemia patients under ibrutinib treatment. *International Workshop on Clinical Pharmacology of Anticancer Drugs in Amsterdam (NL)*, 2019.

### **Communications affichées dans des congrès internationaux**

**Gallais F**, Pétaïn A, Desrivot J, Akla B, Boullay E, Couffin S, Didier E, Del Frari L. Nonclinical to clinical efficacious doses prediction for a novel antibody drug conjugate using PK and PK-PD modelling. Group of metabolism and pharmacokinetics symposium in Lyon (FR), 2019. *Deuxième prix du meilleur poster*.

**Gallais F**, Ysebaert L, Despas F, De Barros S, Dupré L, Quillet-Mary A, Oberic L, Allal B, Chatelut E, White-Koning M. Population pharmacokinetics of ibrutinib and its dihydrodiol metabolite in patients with lymphoid malignancies. Population Approach Group in Europe meeting in Stockholm (SE), 2019.

**Gallais F**, Didier E, Del Frari L. Quantification of uncertainty in preclinical to Human dose prediction. Group of metabolism and pharmacokinetics symposium in Paris (FR), 2017.

### **Communications affichées dans des congrès français**

**Gallais F**, Ysebaert L, Allal B, Chatelut E, White-Koning M. Identification des facteurs prédictifs des concentrations d'ibrutinib par un modèle pharmacocinétique de population. Congrès de la société française d'hématologie à Paris (FR), 2019.

**Gallais F**, Allal B, Ysebaert L, Chatelut E, White-Koning M. Modèle pharmacocinétique de population de l'ibrutinib et son métabolite le dihydrodiol-ibrutinib chez des patients atteints d'hémopathies malignes. Journées du groupe de pharmacologie clinique oncologique à Paris (FR), 2018.

**TITLE:** Pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis of ibrutinib within a multidisciplinary study for the treatment of chronic lymphocytic leukemia

---

**SUMMARY:**

Ibrutinib, the first-in-class Bruton Tyrosine Kinase inhibitor, is indicated for the treatment of chronic lymphocytic leukemia (CLL). CLL is characterized by the accumulation of abnormal B cells in the bone marrow, lymphoid organs and blood. Ibrutinib's pharmacokinetics (PK) is highly variable between patients and its bioavailability is very low. Ibrutinib has several effects on lymphocytes: reduction of proliferation, stimulation of release from the lymph nodes into the circulation, inhibition of the homing phenomenon and stimulation of death. In CLL, different profiles of circulating lymphocyte dynamics have been observed. In particular, some patients show hyperlymphocytosis at the beginning of treatment.

Data from the PK-E3i study including 89 patients treated with ibrutinib for various hematological malignancies were analyzed. A population PK model describing plasmatic concentrations of ibrutinib and its major metabolite, dihydrodiol ibrutinib, was developed and validated. Patients who stopped ibrutinib due to toxicity during the first year of follow-up were shown to have significantly higher ibrutinib plasmatic exposure than those who did not. No difference was observed in patients who stopped treatment due to disease progression.

This PK model was then used to develop a PK-PD model describing circulating lymphocyte dynamics in CLL patients treated with ibrutinib. The final model quantifies the impact of ibrutinib plasmatic concentrations on this dynamic. The model was able to capture the different response profiles and quantify the main effects of ibrutinib, which are the stimulation of lymphocyte release from the lymph nodes into the circulation and the stimulation of lymphocyte death.

Finally, we also developed a population PK model for idelalisib, another kinase inhibitor indicated for the treatment of CLL. This model was developed on real-life data and was consistent with previously published results.



**AUTEUR** : Fanny GALLAIS

**TITRE** : Analyse pharmacocinétique-pharmacodynamique de l'ibrutinib dans le contexte d'une étude multidisciplinaire pour le traitement de la leucémie lymphoïde chronique

**DIRECTEURS DE THESE** : Dr Mélanie White-Koning et Dr Ben Allal

**DATE ET LIEU DE SOUTENANCE** : le 20 octobre 2020, Institut Universitaire du Cancer de Toulouse

---

**RESUME** : L'ibrutinib, premier inhibiteur de la Bruton Tyrosine Kinase, est indiqué dans le traitement de la leucémie lymphoïde chronique (LLC). La LLC se caractérise par l'accumulation de lymphocytes B anormaux dans la moelle osseuse, les organes lymphoïdes et le sang. C'est un médicament présentant une pharmacocinétique (PK) très variable et une biodisponibilité très faible. Ses effets sur les lymphocytes sont : la diminution de la prolifération, la stimulation du relargage depuis les ganglions vers la circulation sanguine, l'inhibition du homing, et la stimulation de leur mort. Dans la LLC, différents profils de l'évolution du taux de lymphocytes circulants ont été identifiés, avec l'observation d'une hyperlymphocytose en début de traitement pour certains patients.

Les données de l'étude PK-E3i incluant 89 patients traités par ibrutinib pour différentes hémopathies malignes ont été analysées. Un modèle PK de population décrivant l'évolution des concentrations d'ibrutinib et de son principal métabolite a été développé et validé. Ce modèle a permis de quantifier la variabilité inter- et intra-individuelle de la PK de l'ibrutinib et de son métabolite. Il a été montré que les patients ayant arrêté leur traitement par ibrutinib pour cause de toxicité au cours de la première année de suivi avaient une exposition plasmatique significativement plus élevée que les autres. Aucune différence n'a été observée chez les patients ayant arrêté leur traitement pour cause de progression de leur maladie.

Ce modèle PK a ensuite été utilisé pour construire un modèle PK-PD décrivant l'évolution du taux de lymphocytes circulants au cours du temps chez des patients atteints de LLC traités par ibrutinib. Ce modèle a permis de quantifier l'impact de la concentration plasmatique d'ibrutinib sur cette évolution. Le modèle final décrit les différents profils de réponse et quantifie les principaux effets de l'ibrutinib que sont la stimulation du relargage des lymphocytes depuis les ganglions vers la circulation et la stimulation de la mort des lymphocytes circulants.

Enfin, nous avons également développé un modèle PK de population de l'idelalisib, un autre inhibiteur de kinase indiqué dans le traitement de la LLC. Ce modèle développé sur des données de vie réelle est en accord avec des résultats précédemment publiés.

---

**TITRE ET RESUME EN ANGLAIS** : voir au recto de la dernière page de la thèse

**MOTS CLES** : Leucémie lymphoïde chronique, pharmacocinétique, ibrutinib, idelalisib

**DISCIPLINE ADMINISTRATIVE** : Sciences de la vie et de la santé – Pharmacologie

**INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE** :

Equipe 14, Inserm U1037 - Centre de Recherches en Cancérologie de Toulouse (CRCT)  
2 avenue Hubert Curien, 31100 Toulouse